P. 160 - 1
(2e ex.)

ISSN 0078-9747

MÉMOIRES
DU
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

NOUVELLE SÉRIE

Série A, Zoologie

TOME LXXX

Evelyne LOPEZ

Laboratoire de Physiologie générale et comparée du Muséum National d'Histoire Naturelle,
Laboratoire d'Endocrinologie comparée associé au CNRS.
7, rue Cuvier. Paris (5ème).

ÉTUDE MORPHOLOGIQUE ET PHYSIOLOGIQUE DE L'OS CELLULAIRE DES POISSONS TÉLÉOSTÉENS

PARIS
ÉDITIONS DU MUSÉUM
38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire (Vᵉ)

1973

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

MÉMOIRES DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
Série A, Tome LXXX

ÉTUDE MORPHOLOGIQUE ET PHYSIOLOGIQUE DE L'OS CELLULAIRE DES POISSONS TÉLÉOSTÉENS

par

Evelyne LOPEZ

SOMMAIRE

Pages

INTRODUCTION 6

MATÉRIEL ET MÉTHODES 8

I. — ESPÈCES UTILISÉES 8

II. — TECHNIQUES UTILISÉES 8

A) *Techniques biologiques et chimiques* 8

1) Prélèvement du sang 8
2) Opérations 8
3) Dosage du calcium dans le sang 8

B) *Techniques histologiques* 8

1) Choix du matériel et prélèvement du tissu osseux 8
2) Modes de fixation, inclusion, coloration 9
3) Autoradiographies 9

a) choix du traceur radioactif 9
b) fixation 10
c) technique autoradiographique 10

4) Choix et critique des méthodes 10

C) *Techniques histophysiques* 10

1) Microradiographie 10
2) Microphotométrie 11
3) Analyse par diffraction des rayons X 11
4) Critique des méthodes 11

D) *Méthodes de mise en évidence et évaluation des processus de remaniement* 11

1) Marquage par la Tétracycline 11
2) Mesure des surfaces en résorption et apposition 11
3) Choix et critique de ces méthodes 12

3 564 008 6

BIBL DU MUSEUM PARIS

Bibliothèque Centrale Mus
3 3001 00480063 8
Source : MNHN Paris

E) *Évaluation quantitative des différents paramètres* 12
1) Dimension des ostéoplastes 12
2) Nombre d'ostéocytes par unité de surface 12
3) Pourcentage d'ostéocytes ostéolytiques. Formule ostéocytaire 13
F) *Mode de fixation et inclusion en vue d'une observation de coupes minces au microscope électronique* .. 13

PREMIÈRE PARTIE

MORPHOLOGIE ET MÉTABOLISME DE L'OS CELLULAIRE VERTÉBRAL, CHEZ PLUSIEURS ESPÈCES DE POISSONS TÉLÉOSTÉENS

Chapitre I. — ÉTUDE HISTOLOGIQUE DE L'OSTÉOGENÈSE ET DE L'ORGANISATION DES DIFFÉRENTES FORMES DU TISSUS OSSEUX CELLULAIRE DANS LA VERTÈBRE 14
1) Introduction 14
2) Mode de formation, caractéristiques et répartition des différentes formes de tissu osseux observées 14
3) Les tissus fibreux, importance des fibres de Sharpey 16
4) Problème de l'irrigation du tissu osseux cellulaire 16
5) Conclusions 17

Chapitre II. — STRUCTURE HISTOCYTOLOGIQUE DU TISSU OSSEUX CELLULAIRE 18
1) Introduction 18
2) Les ostéoblastes et les cellules bordantes 18
3) Les ostéocytes, formule ostéocytaire 19
4) La substance intercellulaire 20
5) Les ostéoclastes 21
6) Conclusions 22

Chapitre III. — MODE DE FONCTIONNEMENT DU TISSU OSSEUX CELLULAIRE 23
1) Introduction 23
2) Synthèse et apposition 23
a) rôle des ostéoblastes 23
b) rôle des ostéocytes 24
c) conclusions 25
3) La résorption 25
a) la résorption ostéoclastique 25
b) la résorption ostéolytique (ostéolyse) 26
c) le remaniement osseux, discussion 28
4) Étude des variations du degré de minéralisation de la substance intercellulaire 29
a) accroissement du degré de minéralisation de la substance intercellulaire .. 29
b) déminéralisation de la substance intercellulaire : l'Halastasie 29
c) conclusions 30
Résumé de la première partie 30

Source : MNHN, Paris

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE L'OS CELLULAIRE VERTÉBRAL CHEZ PLUSIEURS ESPÈCES DE POISSONS TÉLÉOSTÉENS

Chapitre I. — MISE EN ÉVIDENCE DE L'ACTION DE PLUSIEURS FACTEURS FAVORISANT LA RÉSORPTION OSTÉOCLASTIQUE 32

I — Effet de la maturation sexuelle 32

A — *Maturation expérimentale chez l'Anguille femelle*

1) Introduction 32
2) Protocole expérimental 33
3) Modifications observées chez la femelle mature 33
a) au niveau du sang 33
b) au niveau du tissu osseux vertébral 34
4) Résultats négatifs chez l'Anguille mâle mature 35
5) Résumé et discussion 36

B — *Maturation naturelle chez le Congre femelle* 36

1) Introduction 36
2) Le « Congre caoutchouc » ou Congre mature femelle 36
3) Modifications observées 37
a) au niveau du sang 37
b) au niveau osseux 38
4) Résumé 38

C — *Discussion* 38

II — Effet d'un œstrogène chez le Cyprin 39

1) Introduction 39
2) Protocole expérimental
3) Résultats
4) Discussion 40

III — Effet de la thyroxine (T_4) chez la Truite maintenue dans certaines conditions expérimentales

1) Introduction 41
2) Protocole expérimental 41
3) Résultats 41
4) Discussion 42

Chapitre II. — MISE EN ÉVIDENCE DE L'ACTION DE PLUSIEURS FACTEURS TENDANT A RÉDUIRE LA RÉSORPTION OSTÉOCLASTIQUE 44

I — Effet de l'ablation des corpuscules de Stannius sur le tissu osseux de l'Anguille 44

1) Introduction 44
2) Protocole expérimental 45
3) Résultats 45
4) Discussion 46

Source : MNHN, Paris

II — Effet présumé de la calcitonine ultimobranchiale endogène chez l'Anguille et le Congre 47

1) Introduction
2) Protocole expérimental 47
3) Résultats 48
4) Discussion 49

III — Effet, sur l'os de l'Anguille et de la Truite, de calcitonines exogènes, administrées en traitement de longue durée 50

A — Introduction 50

B — Action de la calcitonine (CT) synthétique de Saumon chez l'Anguille femelle mature 50

1) Introduction 50
2) Protocole expérimental 50
3) Résultats 51
4) Discussion 53

C — Action de la calcitonine (CT) porcine chez la Truite non traitée et la Truite traitée à la thyroxine (T_4)

1) Introduction 53
2) Protocole expérimental 54
3) Résultats 54
4) Discussion 55

IV — Action d'un phosphonate, le MDP, sur l'os de l'Anguille femelle mature

1) Introduction 55
2) Protocole expérimental 55
3) Résultats 55
4) Discussion 55

Chapitre III. — MISE EN ÉVIDENCE D'UNE RÉGULATION HORMONALE DE LA RÉSORPTION OSTÉOLYTIQUE 57

A — *Étude de l'action des facteurs susceptibles de favoriser l'ostéolyse* 57

1) Introduction 57
2) Effet de la maturation génitale, expérimentale chez l'Anguille femelle, naturelle chez le Congre femelle 57
3) Absence d'effet de la T_4 chez la Truite, et de l'œstrone chez le Cyprin 59
4) Discussion 60

B — *Étude de l'action des calcitonines (CT) sur l'ostéolyse*

1) Introduction 60
2) Mise en évidence de l'effet de la CT synthétique de Saumon, chez l'Anguille femelle, pendant et après la maturation 61
3) Mise en évidence de la CT porcine, chez la jeune Truite, placée dans différentes conditions expérimentales 62
4) Discussion et conclusions 63

Source : MNHN, Paris

Chapitre IV. — RÉGULATION DES PHÉNOMÈNES DE MINÉRALISATION ET DÉMINÉRALISATION DE LA SUBSTANCE OSSEUSE INTERCELLULAIRE 64

A — *Étude des différents agents provoquant une déminéralisation osseuse par halastasie* 64

1) Introduction
2) Effet de la maturation sexuelle chez l'Anguille femelle et le Congre femelle. 64
3) Effet de la thyroxine (T_4) chez la jeune Truite 66
4) Discussion 67

B — *Effet des calcitonines (CT) sur la déminéralisation halastasique*

1) Introduction 69
2) Action de la CT synthétique de Saumon chez l'Anguille femelle mûrie expérimentalement
3) Action de la CT porcine chez la jeune Truite traitée à la T_4 70
4) Discussion 71

C — *Mise en évidence d'un accroissement du taux de minéralisation de la substance intercellulaire après ablation des corpuscules de Stannius*

1) Introduction 71
2) Effet sur le degré de minéralisation de la substance intercellulaire
3) Discussion 72

Chapitre V. — ÉTUDE DE QUELQUES VARIATIONS DU PHÉNOMÈNE D'APPOSITION PROVOQUÉES EXPÉRIMENTALEMENT 74

1) Introduction 74
2) Stimulation présumée de l'apposition, après ablation des corpuscules de Stannius chez l'Anguille 74
3) Modifications provoquées, chez la Truite, après traitement à la T_4 et chez le Cyprin après traitement aux œstrogènes 75
4) Discussion 75

CONCLUSIONS GÉNÉRALES 77

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 81

Source : MNHN, Paris

INTRODUCTION

L'histoire de l'os est fort complexe, l'acquisition d'un endosquelette calcifié par certains animaux marins ne fut pas un phénomène soudain, mais probablement le résultat d'une lente et sinueuse évolution. Les vertébrés les plus archaïques (Ostracodermes de l'Ordovicien au Dévonien) n'avaient pas de mâchoires, leur existence est connue surtout grâce aux restes de leur armure osseuse dermique. Une théorie des paléontologistes modernes conduits par Stensiö et Romer (dans Urist, 1964) veut que les Ostracodermes soient les ancêtres de nos vertébrés actuels les plus primitifs, c'est-à-dire des Cyclostomes ou Agnathes dont l'endosquelette est constitué de cartilage non calcifié.

Les Chondrichthyens représentés par les Elasmobranches, Poissons à cartilage calcifié seraient, eux, des formes relativement récentes et d'après Moy-Thomas (1939) les descendants d'une branche mystérieuse pourvue d'os, considérée par Jarvik (1960) comme étant sans doute voisine des Arthrodires ; ceci expliquerait la présence, chez les Sélaciens, d'un corps ultimobranchial sécrétant une calcitonine, hormone agissant essentiellement sur l'os. Les plus anciens Actinopterygiens apparus au Devonien moyen et au Carbonifère (les Paleoniscidés) sont considérés comme le groupe original à partir duquel se seraient diversifiées (selon l'opinion actuelle, Jarvik, 1960) de nombreuses lignées évolutives, qui auraient eu tendance à évoluer vers le stade Téléostéen.

D'après Romer (1963), l'os tel qu'il apparaît aujourd'hui chez les Poissons osseux ou Osteichthyens (par opposition à Chondrichthyens) dériverait de l'exosquelette des formes primitives, plutôt que du cartilage calcifié d'ancêtres des Elasmobranches. On a, en effet, longtemps considéré la calcification du cartilage comme précédant phylogénétiquement l'ossification enchondrale ; cette idée est apparue ensuite inexacte car on a observé à la fois le tissus osseux et le cartilage calcifié dès les premiers Vertébrés connus (Ordovicien) et il est difficile de dire quel est le plus primitif (Jarvik, 1960). Le cartilage calcifié des Sélaciens serait d'après Stensiö (1927) et Romer (1963) un tissu non pas phylogénétiquement primitif mais un tissu « caenogénétique », c'est-à-dire adapté à la phase embryonnaire de l'ontogenèse. Nous devons, souligne Romer (1963), considérer le tissu osseux, dans l'histoire des Vertébrés, comme étant un matériel squelettique ancien et non une acquisition récente. Il apparaît clairement aujourd'hui (Jarvik, 1960) que les boucliers d'os dermiques n'ont pu être primitifs, ils ont dû apparaître par fusion d'unités de croissance plus petites. C'est la théorie lépidomoriale (Ørvig, 1951 ; Stensiö, 1958) qui, pour la première fois, montre quelle était vraiment la petitesse de ces unités de croissance, leur nature et les lois de leur fusion en unités plus complexes.

Certaines formes de Vertébrés aquatiques, au cours de leur évolution, ont eu tendance à réduire leur masse osseuse ; par contre, d'autres ont étendu leur degré d'ossification en acquérant un endosquelette, certains ont donné le grand groupe des Téléostéens (mot d'origine grecque signifiant os « ὀστέον », complet « τέλος »).

On peut classer les Téléostéens en deux catégories : l'une ayant un squelette constitué d'os cellulaire ou tissu osseux vrai et l'autre d'os acellulaire ou tissu osteoïde (Kölliker, 1859). A ce propos des controverses apparaissent, le tissu osteoïde est-il un tissu dégénéré ayant perdu ses cellules ou au contraire un tissu jeune capable de se transformer par la suite en véritable tissu osseux ? D'après Blanc (1953) l'os acellulaire correspond probablement à un stade de développement par lequel passe le squelette de tous les Téléostéens et paraît donc pouvoir être considéré comme un tissu moins évolué que l'os

Source : MNHN, Paris

cellulaire ; lorsque le tissu osteoïde ne disparaît pas chez l'adulte (ce qui est le cas chez un grand nombre de Téléostéens) il s'agit de la persistance d'un caractère infantile (néoténie) comparable à celle du cartilage chez les Elasmobranches. Pour Ørvig (1951) au contraire l'acellularité n'est pas primitive mais secondaire : ce tissu dériverait d'os plus typique, encore plus ancien, par perte des cellules incluses.

Un os cellulaire dont la morphologie a été encore peu étudiée est rencontré chez : les Clupéidés, les Anguillidés, les Congridés, les Cyprinidés et les Scopélidés, familles en général considérées, à d'autres points de vue, comme étant peu évoluées.

Quel a été le but de l'acquisition d'un squelette ? D'après Urist (1964) « l'os a évolué non seulement pour donner aux vertébrés leur stature mais aussi pour leur constituer une réserve en minéraux vitaux. Ceux-ci ont pu alors quitter l'eau et coloniser la terre sèche ». Selon Romer (1963) l'os chez les premiers Vertébrés a joué un rôle physiologique non négligeable, mais son importance aurait été secondaire plutôt qu'essentielle. En effet, il a été constaté que les Agnathes actuels dépourvus de réserve phosphocalcique et les Elasmobranches n'ayant qu'un cartilage calcifié sont capables d'user de certains mécanismes particuliers afin de maintenir leur balance calcique ; celle-ci étant cependant mieux équilibrée chez les Sélaciens que chez les Cyclostomes, en particulier les Myxines (Urist, 1964). Par ailleurs, il est aussi remarquable de constater que chez les Téléostéens, l'apparition d'un squelette osseux constitué d'apatite (Urist, 1962) va de pair avec l'acquisition d'une bonne homéostasie calcique. L'os et le milieu intérieur constituent, d'après Urist, (1962), « un continuum », alors que, chez les Cyclostomes dépourvus d'os, donc d'apatite, la concentration en phosphate et en calcium du milieu intérieur dépend « en cycle ouvert » du milieu extérieur (Urist et Van De Putte, 1966).

Chez les poissons osseux, de nombreux tissus fixent le calcium, en particulier la peau, mais le squelette constitue la plus importante réserve sous forme de phosphate de calcium. Certains Téléostéens (soumis à un régime pauvre en calcium) peuvent accroître la teneur en calcium de leur squelette en puisant cet ion à partir du milieu extérieur (dans Fleming, revue, 1967) ; il a aussi été montré (Podoliak, 1965) que de jeunes Truites maintenues au jeune complet fixent moins de calcium dans les tissus mous que dans l'os. D'après Fleming, ces résultats suggèrent une implication probable de l'os des Téléostéens dans la régulation de leur métabolisme calcique. L'os cellulaire a-t-il physiologiquement une efficience comparable à celle de l'os acellulaire ? Selon Moss (1962) seul le tissu osseux pourvu d'ostéocytes est capable d'exercer un contrôle homéostasique du calcium. Cette assertion est mise en doute par Fleming (1967), celui-ci pense que le simple fait d'une calcification squelettique organisée est déjà, en quelque sorte, un mode de régulation en lui-même ; hypothèse concordant avec le fait que la majeure partie des Téléostéens a un os acellulaire.

L'os, tissu hautement spécialisé, à structure très caractéristique, est en général mal connu car difficile à étudier surtout histologiquement ; de plus, les Poissons présentant, en tant que Vertébrés inférieurs, une très grande diversité de tissus squelettiques calcifiés, les recherches sur le tissu osseux, dans ce groupe, sont particulièrement difficiles. Les travaux concernant ce sujet sont peu nombreux, ceux de Moss (1961-1963) et Norris et al. (1963) s'attachent, plus spécialement, au tissu osseux acellulaire. Profitant de l'acquisition de techniques nouvelles — celles-ci ayant permis de faire de grands progrès dans la compréhension du métabolisme osseux chez les Vertébrés supérieurs — nous avons entrepris, dans la première partie de ce mémoire, l'étude de la morphologie et du mode de fonctionnement du tissu osseux celullaire chez quatre espèces de Téléostéens : Carassius auratus L., Salmo gairdnerii Rich., vivant en eau douce ; Conger conger, en eau de mer, et Anguilla anguilla L., espèce amphihaline (Fontaine, 1971).

L'objet de la seconde partie est de tenter de déterminer — par comparaison avec le métabolisme osseux chez les Mammifères — si le fonctionnement de l'os vrai des Poissons est sous contrôle hormonal et quelle est l'importance du rôle joué par le squelette, en tant que réservoir de calcium, lors de certains déséquilibres de la balance calcique survenant naturellement ou expérimentalement ; ceci afin de préciser si l'os cellulaire des Téléostéens contribue à réguler leur homéostasie calcique.

Source : MNHN, Paris

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I — ESPÈCES UTILISÉES

Cette étude a été réalisée sur quatre espèces de Poissons Téléostéens à os cellulaire : l'Anguille européenne (Anguilla anguilla L.), le Congre (Conger conger) de l'ordre des Anguilliformes, la Truite arc-en-ciel (Salmo gairdnerii Rich.) de l'ordre des Clupéiformes et le Cyprin (Carassius auratus L.) de l'ordre des Cypriniformes.

Les Anguilles(♀ argentées) proviennent des étangs de la Somme ou de Loire-Atlantique, les jeunes ♂ argentés ou pimpeneaux, de Grande-Brière (Loire-Atlantique).

Les Truites arc-en-ciel nous sont fournies par une pisciculture des environs de Paris et les Cyprins par la maison « Scapex » de Paris.

Tous ces animaux sont, quelques semaines avant les expériences, placés en stabulation dans les aquariums du laboratoire.

II — TECHNIQUES UTILISÉES

A — *Techniques biologiques et chimiques*

1) *Prélèvement du sang*

Les Anguilliformes (Anguille et Congre) sont immobilisés dans un appareil à contention, l'aorte ventrale est disséquée après incision de la peau et des muscles sous-jacents, dans la région cardiaque, en avant des nageoires pectorales. L'artère est sectionnée à 1 ou 2 cm du cœur.

Les Truites et les Cyprins sont saignés par section de l'aorte dorsale et de la veine caudale en arrière de la région anale.

2) *Opérations*

L'ablation des corpuscules de Stannius de l'Anguille est effectuée d'après la technique mise au point par Leloup-Hatey (1964 b.).

3) *Dosage du calcium dans le sang*

Le dosage des calcémies a été fait sur le sérum, dans le cas d'une première expérience, selon la méthode de Delaville et coll., puis, dans tous les autres cas, par spectrophotométrie d'absorption atomique (Perkin-Elmer).

B — *Techniques histologiques*

1) *Choix du matériel et prélèvement du tissu osseux*

Les différentes techniques employées étant d'une réalisation minutieuse et longue, il nous était matériellement impossible d'observer l'os de toutes les parties du squelette. Nous avons limité ce travail

Source : MNHN, Paris

à l'étude comparée du tissu osseux de l'axe vertébral dont l'ostéogenèse, comme nous allons le décrire, est du même type chez les différentes espèces de Poissons Téléostéens étudiées. De plus, nous avons volontairement exclu les os du crâne, car celui-ci, chez l'Anguille, qui est notre matériel de base, subit des remaniements allant de pair avec les transformations physiologiques qui affectent cet animal au cours de son cycle vital.

Les échantillons sont prélevés à différents niveaux de la colonne vertébrale et sont débarrassés du muscle qui les entoure, en ayant soin de laisser une très mince couche tissulaire afin de ne pas léser les cellules bordantes.

2) *Modes de fixations, inclusion, coloration*

a) *Protocole suivi pour l'obtention et la coloration des coupes non décalcifiées*

La plus grande partie des pièces est colorée en masse dans la fuchsine basique alcoolique à 1% (Frost, 1959), la fixation, la déshydratation et la coloration se font simultanément à partir de l'alcool 70°, une telle fixation à l'alcool permet d'éviter complètement la déminéralisation. Quelques échantillons pris dans chaque groupe sont inclus sans coloration.

Après éclaircissement au toluène, nous incluons dans le méthacrylate de méthyle selon la technique de Baun et Morgenthaler (1952).

Les blocs sont coupés en série, à 120 μ, avec une machine de « Gillings-Hameo » montée d'un disque diamanté. Les coupes ainsi obtenues sont poncées et amincies à 50 μ par polissage entre deux lames de verre, dépolies au carborundum ; leur épaisseur est mesurée au moyen d'un comparateur de précision(au micron) afin qu'elle soit homogène sur toute la surface à 2 μ près. Après radiographie, elles sont à nouveau poncées et amincies entre 15 et 10 μ pour les observations fines. Les coupes colorées à la fuchsine basique sont montées entre lame et lamelle dans le Baume de Canada ; les coupes non colorées sont séparées en deux lots ; les unes sont montées, telles quelles, pour l'examen en contraste de phase et en polarisation, les autres sont colorées soit :

1 — au bleu de Toluidine (B.T. dans alcool 30 %, rinçage à l'alcool à 95 °, alcool 100°, toluène et montage dans DPX).

2 — au PAS, métbode de Hochkiss Mac-Manus.

b) *Protocole suivi pour l'obtention de coupes décalcifiées.*

— A partir de coupes non décalcifiées, nous procédons à une décalcification de ces coupes dans le liquide de Plank et Rychlo, ou dans une solution d' E.D.T.A. disodique ; une fois décalcifiées, les coupes sont colorées à l'Hématoxyline de Harris-éosine ou à l'Hémalun de Mayer-éosine.

— Ou bien, les échantillons sont fixés dans le Bouin aqueux ou alcoolique, puis décalcifiés selon la méthode classique à l' E.D.T.A. et ensuite inclus dans un mélange paraffine-celloïdine ou dans la paraffine seule après traitement au benzoate de méthyle. Les colorations sont les mêmes que celles décrites précédemment, en ajoutant la tricbrome de Cleveland Wolfe.

3) *Autoradiographies*

a) *Choix du traceur radioactif*

L'Anguille est utilisée pour l'étude de l'apposition du constituant organique de l'os et de l'apposition minérale au niveau des lacunes ostéocytaires.

Pour l'étude de l'apposition organique, nous avons injecté de la glycine tritiée ainsi que le préconise Dupont (1964) chez la Souris.

La quantité injectée (par injection intrapéritonéale) est de 20 μC/gr de poids, d'une glycine tritiée d'activité spécifique de 1 C/mM, diluées dans 2 ml de solution saline isotonique. Les animaux sont sacrifiés 24 heures après l'injection.

Pour l'étude de l'apposition minérale (calcium stable), nous injectons 1 μC de ^{45}Ca (activité spécifique : 21,08 μC/mM) dans 2 ml de solution saline isotonique et les animaux sont sacrifiés 24 heures après l'injection.

Source : MNHN, Paris

b) *Fixation*

Les échantillons prélevés très rapidement sont fixés par la méthode de congélation substitution selon Baud et Dupont (1961), afin d'éliminer au maximum les artefacts de diffusion.

Le fixateur est de l'alcool picriqué pour les échantillons destinés à la décalcification, de l'alcool 95° pour ceux destinés à une inclusion, tels quels, dans le méthacrylate. La décalcification est faite dans l' E.D.T.A. disodique (Complexon III) suivie d'une inclusion à la paraffine.

c) *Technique autoradiographique*

Les coupes à la paraffine sont collées à la gélatine, les coupes au méthacrylate sont collées sur des lames substratées par simple pression à chaud.

L'émulsion sensible est l'émulsion liquide Ilford 715 diluée à 60%. Les coupes sont conservées à 5° en atmosphère sèche pendant toute la durée de l'exposition. Des prélèvements sont faits à intervalles réguliers après une semaine d'exposition.

Certaines coupes sont colorées à l'hémalun-éosine ou au PAS avant le « dipping », d'autres le sont après, ce qui donne de meilleurs résultats.

4) *Choix et critiques des méthodes*

L'étude sur matériel non décalcifié s'est avérée être la plus fructueuse. Cette technique permet d'éviter toutes les déformations induites par la décalcification; de plus, elle permet d'observer l'os dans son intégrité. Décalcifier l'os prive d'informations très importantes sur le taux de sa charge calcique ; en effet, sur matériel non décalcifié, les régions en cours de minéralisation ou de déminéralisation prennent plus ou moins le colorant.

L'observation de coupes, non décalcifiées, en lumière polarisée apporte un grand nombre d'informations complémentaires sur la structure de l'os et la direction des couches osseuses. Le plastique que nous utilisons étant, après polymérisation, amorphe, isotrope, il n'a pas de biréfringence propre susceptible de s'ajouter à celle du tissu osseux qui est due à l'anisotropie conjuguée de trois composants : les fibres collagène, la substance fondamentale et le cristal d'hydroxylapatite. L'inclusion dans le méthacrylate augmente la transparence de l'os et provoque un éclaircissement en modifiant son indice de réfraction. L'observation en contraste de phase de telles coupes a l'intérêt de mettre en évidence, sans coloration, de très faibles différences d'absorption ou de réfraction lumineuse, elle permet de mieux observer les canalicules et la trame organique.

Toutes ces informations sont complétées par l'observation simultanée de la microradiographie correspondante.

La coloration en masse à la fuchsine basique s'est révélée être une coloration très fine, elle donne les meilleurs résultats surtout pour la mise en évidence des ostéoclastes dans les cryptes de résorption.

C — *Techniques histophysiques*

1) *Microradiographie*

Les radiographies des coupes non décalcifiées sont faites avec un générateur de rayons X (Massiot-Philips, PW 1008), sous 30 KV-20mA, en utilisant le rayonnement Kα du cuivre. La coupe non décalcifiée est maintenue en contact étroit avec le film (émulsion Kodak spectroscopic 649-0) dans une caméra à vide construite selon les indications de Scott et al. (1962).

Le temps d'exposition est de 5 minutes à 17 cm de la source pour les microradiographies destinées à la photométrie, et de 10 minutes pour celles nécessitant un contraste plus important et destinées à l'observation au microscope en lumière transmise. Elles sont développées dans le révélateur Kodak D-19 b pendant 5 minutes, à une température de 20°C, en prenant soin d'agiter énergiquement le film dans la solution. Les microradiographies sont montées entre lame et lamelle dans le Baume de Canada.

Source : MNHN, Paris

2) *Microphotométrie*

Le principe de cette méthode décrite par Engström et Wegstedt (1951) et par Baud (1957) consiste à radiographier en même temps que chaque coupe et sur le même film un étalon de comparaison, composé ici de 7 marches d'aluminium d'épaisseur connue, de façon à ce que : l'intensité du rayonnement X, le temps d'exposition, les conditions de développement soient exactement les mêmes. Les microradiographies ainsi réalisées et développées selon les conditions rigoureuses définies plus haut (paragraphe microradiographie) sont étudiées avec un histophotomètre de Leitz (modèle MPV, tête Knott). Avec cet appareil les mesures photométriques sont effectuées directement dans l'image microradiographique de la coupe et de l'étalon. Nous mesurons un certain nombre de déflexions du photomètre pour chaque palier de l'étalon d'aluminium, et nous traçons la courbe d'étalonnage en fonction de l'épaisseur de substance étalon traversée par le rayonnement X. Puis les mesures sont faites sur la coupe en explorant la totalité de celle-ci ; la valeur moyenne obtenue est exprimée, en fonction de l'épaisseur de la coupe, en équivalent aluminium (Trewlis, 1940), elle représente le degré de minéralisation moyen de la coupe. A partir de cette valeur, la teneur en substance minérale est calculée en grammes d'hydroxylapatite par cm³ d'os (Sissons et al., 1960).

3) *Analyse par diffraction des rayons X*

Nous avons évalué quantitativement, par diffraction des RX, selon la méthode décrite par Harper et Posner (1966), la fraction de phosphate de calcium amorphe et la fraction d'apatite cristalline constituant le minéral du tissu osseux vertébral de l'Anguille *.

4) *Critique des méthodes*

Afin d'obtenir des microradiographies comparables, les conditions de développement doivent être très scrupuleusement respectées, ce qui permet en outre d'éviter au maximum les artefacts photographiques, « bandes de Mackie et effet Eberhard » (Lobjoie, 1965).

L'appréciation photométrique du degré de minéralisation de l'os est une bonne méthode comparative, mais ceci à plusieurs conditions : l'épaisseur des coupes doit être uniforme et appréciée au micron près, l'histophotomètre utilisé doit permettre d'obtenir des mesures absolument reproductibles ; de plus, nous ne reviendrons pas sur la constance indispensable des conditions de développement des radiographies.

Cette méthode permet d'effectuer des mesures en des points très précis d'une coupe observable simultanément dans le champ du microscope et de cette façon d'évaluer quelle est l'origine et la nature de la minéralisation ou déminéralisation enregistrée et de localiser ces phénomènes.

D — *Méthodes de mise en évidence et évaluation des processus de remaniement*

1) *Marquage par la tétracycline*

Les animaux reçoivent en une seule injection intrapéritonéale 0,05 mg/g de poids d'achromycine V Lederle (Dupont, 1964). Ceux-ci sont sacrifiés soit trois jours après l'injection, soit huit jours après. Les coupes, non décalcifiées, obtenues après ce traitement sont observées en lumière ultraviolette (UV) ; la fluorescence propre de l'os apparaît bleue, la fluorescence de la tétracycline jaune.

2) *Mesure des surfaces en résorption et en apposition*

Au cours de l'observation en lumière transmise, chaque coupe est comparée à la microradiographie correspondante, ce qui permet de localiser nettement : les surfaces de résorption, les surfaces en apposition et les surfaces inactives, ceci d'après les critères d'identification proposés par Jowsey et al. (1965).

*Ce travail a été réalisé en collaboration avec Monsieur le Professeur C.A. Baud et Monsieur le Docteur H.S. Lee. Laboratoire de Morphologie de la Faculté de Médecine de Genève.

Source : MNHN, Paris

Le principe d'évaluation quantitative de ces différents processus est de mesurer, sur les microradiographies, la longueur des contours qui représentent la trace des surfaces dans le plan de coupe, conformément aux principes stéréologiques de l'analyse morphométrique (Weibel et Elias, 1967). Pour ceci, nous avions le choix entre deux méthodes.

a) *méthode curvimétrique, préconisée par JOWSEY et al. (1965).*

Elle consiste à repérer, à l'aide de la microradiographie correspondante, sur le dessin d'une coupe agrandie (40 fois) obtenue par projection (aristophot, Leitz), les différentes surfaces caractéristiques ; celles-ci sont mesurées au curvimètre et rapportées en % de la surface totale.

b) *méthode d'intégration.*

Il s'agit, dans ce cas, d'examiner la microradiographie avec un oculaire intégrateur de Hennig (1958) (Zeiss II (8 X)) dans lequel est incorporé un réticule constitué de six segments de droite ; nous avons repris la technique de Frost et al. (1962) utilisée par Bordier et al. (1964) et Nedir (1967). La coupe étudiée (15 à 10 μ) est entièrement explorée (oculaire 10 X, obj. 8 X) de façon à ce que les champs de lecture ne se recoupent pas. Une coupe transversale de l'axe vertébral, des Poissons étudiés, représente en moyenne 10 champs de lecture avec un minimum, pour chaque champ, de 20 intersections entre les bords des travées et le réticule ; nous analysons par cette méthode 10 coupes par animal de façon à avoir au moins 2000 intersections. Les résultats sont exprimés en % de la surface totale.

L'index ostéoclastique (Schenk et al., 1969) est déterminé en comptant tous les ostéoclastes, ceci champ par champ, le nombre total d'ostéoclastes est divisé par le nombre total d'intersections entre le réticule et les surfaces osseuses.

3) *Choix et critique de ces méthodes*

La Tétracycline, chez les Mammifères, marque spécifiquement les surfaces en apposition, cette spécificité n'est pas rigoureuse chez les Poissons, toutes les surfaces où le calcium est facilement mobilisable sont marquées. Le marquage à la glycine 3 H nous apporte, au niveau des ostéoplastes, des informations plus précises.

Afin de mesurer les surfaces remaniées, nous avons comparé la méthode curvimétrique à la méthode d'intégration en les testant sur plusieurs échantillons de notre matériel, les résultats obtenus dans l'un et l'autre cas concordent parfaitement ; nous avons donc adopté la méthode d'intégration qui est la plus rapide. Au taux de résorption nous ajoutons, dans certains cas particuliers, une information supplémentaire, l'index ostéoclastique **IO**), cette valeur est de grande importance car elle permet de préciser si les différences mesurées ne sont pas le résultat de variations de vitesse du phénomène de résorption ou d'apposition, ce dernier masquant alors rapidement les surfaces érodées.

E — *Évaluation quantitative de différents paramètres*

1) *Dimension des ostéoplastes*

Les mesures des ostéoplastes sont effectuées sur coupes non décalcifiées (10 μ) à l'immersion (obj. 100 X) et au micromètre oculaire, elles sont faites sur 500 lacunes prises au hasard ; celles-ci ont chez toutes les espèces étudiées une forme ellipsoïdale et le grand axe est orienté longitudinalement par rapport au tube neural. En coupe transversale, nous avons le diamètre moyen et le petit diamètre, en coupe longitudinale, le grand diamètre.

2) *Nombre d'ostéocytes par unité de surface*

Les coupes (10 à 15 μ) projetées agrandies sont dessinées et planimétrées. En s'aidant d'un oculaire quadrillé, tous les ostéocytes contenus dans la coupe sont comptés et leur nombre est rapporté à l'unité de surface.

Source : MNHN, Paris

3) *Pourcentage d'ostéocytes ostéolytiques — Formule ostéocytaire*

De la même façon que précédemment, nous comptons tous les ostéocytes et ensuite les ostéocytes ostéolytiques dont le nombre est exprimé en pourcentage. Par ostéocytes ostéolytiques, nous entendons : les ostéocytes entourés d'un halo coloré, les ostéocytes situés dans des lacunes agrandies dont les parois sont crénelées.

Dans certains cas les ostéocytes peuvent être facilement classés en trois catégories : les petits ostéocytes, les ostéocytes situés dans des lacunes agrandies ou entourées d'un halo coloré (c'est-à-dire les ostéocytes ostéolytiques + ostéoplastiques), les lacunes agrandies et vides. Une formule ostéocytaire est déterminée (Baud et al., 1968 ; Baud et Auil, 1971) chaque catégorie étant exprimée en % du nombre total d'ostéocytes + ostéoplastes vides.

Toutes ces mesures sont faites sur 6 coupes par animal.

F — *Mode de fixation et d'inclusion en vue d'une observation de coupes minces au microscope électronique*

De très petits fragments d'os vertébral sont fixés par immersion dans la glutaraldéhyde (tampon cacodylate) et le tétroxyde d'osmium d'après la méthode de Warshawsky et Moore (1967), cependant sans être décalcifiés, et inclus dans l'Epon. Des coupes de 600 Å sont faites avec un rasoir de diamant et recueillies sur l'eau à pH 8, 4 pour éviter la dissolution de la substance minérale. Elles sont observées au microscope électronique (Philips EM 200) après coloration au plomb dans le but de mettre en évidence la substance intercellulaire de l'os *.

G Tous les clichés représentant le tissu osseux ont été réalisés à partir de coupes non décalcifiées colorées à la fuchsine basique (coloration en masse).

*Ce travail (préliminaire d'une étude cytologique) a été réalisé au laboratoire de Morphologie de l'École de Médecine de Genève. Directeur : Monsieur le Professeur C. A. Baud.

Source : MNHN, Paris

PREMIÈRE PARTIE

MORPHOLOGIE ET MÉTABOLISME DE L'OS CELLULAIRE VERTÉBRAL CHEZ PLUSIEURS ESPÈCES DE POISSONS TÉLÉOSTÉENS

CHAPITRE I

ÉTUDE HISTOLOGIQUE DE L'OSTÉOGENÈSE ET DE L'ORGANISATION DES DIFFÉRENTES FORMES DU TISSU OSSEUX CELLULAIRE DANS LA VERTÈBRE.

1°) Introduction

Il existe chez les Poissons une très grande diversité dans les processus d'ostéogenèse, ceci suivant les familles, les espèces et aussi la situation anatomique de l'os considéré. Une mise au point très intéressante des différents rapports pouvant exister, dans ce groupe, entre le cartilage et le tissu osseux, a été faite par Blanc (1953). Il ressort de cette étude que l'ossification endochondrale, importante chez les Mammifères, est un phénomène peu fréquent chez les Poissons ; en accord avec Stephan (1898-1900), cet auteur signale que ce mode d'ossification est surtout rencontré lors de la formation de la vertèbre.

Les vertèbres des Poissons Téléostéens sont de type amphicœlique, elles sont dites plus vulgairement « en sablier », c'est donc cette catégorie de vertèbre que nous avons rencontrée chez l'Anguille, le Congre, la Truite et le Cyprin.

Au cours de ce travail, tout en apportant quelques précisions complémentaires sur l'ossification endochondrale déjà décrite par Stephan (1898), il a été possible de déterminer, en rapport avec leur mode et leur temps de formation, quelles sont les différentes catégories de tissu osseux cellulaire qui constituent la vertèbre, et d'étudier leurs diverses caractéristiques.

2°) Mode de formation, caractéristiques et répartition des différentes formes du tissu osseux observées

Sur une coupe transversale de vertèbre amphicœle, l'on distingue : le corps vertébral et partant de celui-ci, les basidorsaux et les basiventraux formant deux couples d'arcs respectivement neuraux (neurapophyses) et hémaux (hémapophyses) (fig. 1). Le corps vertébral et les arcs vertébraux sont, chez les adultes, également constitués d'os lamellaire bien qu'ayant une origine différente : le premier est issu du manchon fibreux qui entoure primitivement la chorde, les seconds proviennent, dans la plupart des cas, de l'ossification d'un modèle cartilagineux. L'os du corps vertébral apparaît directement au niveau du tissu squelettogène de la chorde, riche en fibres orientées concentriquement (Bertin, 1958). En effet, l'observation de coupes transversales de Civelles (stade de développement de l'Anguille) montre qu'en différents endroits, apparaissent des plages de tissu osseux synthétisées par des ostéoblastes provenant de la différenciation de certaines cellules conjonctives avoisinantes. Ces plages osseuses

Source : MNHN, Paris

se déposent en suivant la direction des fibres préexistantes qu'elles envabissent, ce qui donne, dès le début, à cet os l'aspect lamellaire. Les différentes régions ossifiées se réunissent, les lamelles osseuses se superposent et les ostéoblastes se trouvent repoussés vers les zones de croissance, c'est-à-dire vers la périphérie. Nous nous trouvons là en présence du premier mode d'ossification (ossification de membrane) décrit par Blanc (1953).

L'ossification endochondrale apparaît au niveau de nodules cartilagineux, qui vont servir de ligne directrice à l'élaboration des arcs vertébraux. Ce fait est très net et observable chez la jeune Truite et le Cyprin dont l'ossification est, semble-t-il, plus lente que celle de l'Anguille (fig. 2). Nous sommes en présence d'un cartilage hyalin typique par opposition au cartilage à stroma capsulaire signalé chez certains Poissons (fig. 3). Il est formé de cellules aplaties, les chondrocytes, séparées les unes des autres par une substance fondamentale fortement PAS +, métachromatique avec le Bleu de Toluidine et très fortement colorée par la fuchsine basique ; elle est donc sans doute, comme c'est le cas chez les Mammifères, très riche en acide chondroïtine sulfurique. Ces cellules cartilagineuses, réparties sans ordre dans la substance fondamentale, s'orientent légèrement à l'extrémité des nodules et alors s'hypertrophient considérablement (fig. 3 - 4), il n'y a pas à proprement parler de cartilage sérié. Par endroits, les chondrocytes hypertrophiés dégénèrent (fig. 4), à leur voisinage la substance fondamentale disparaît et il se forme ainsi des cavités entre des travées de cellules. Les cellules conjonctives environnantes migrent dans ces cavités, elles se transforment en ostéoblastes (fig. 4) et synthétisent du tissu osseux le long des travées cartilagineuses qui, une fois cernées, disparaissent ; peu à peu le cartilage est remplacé par de l'os. Contrairement à ce qui se passe chez les Mammifères, ainsi que le signale Blanc (1953), l'irrigation sanguine est peu importante au cours de ce processus. Chez la Truite et le Cyprin (fig. 5 - 6) dans une région d'ossification endochondrale, des ostéoclastes résorbant de l'os nouvellement formé sont discernables ; un tel fait, jusqu'ici, n'avait pu être observé (Norris et al., 1963). L'ossification endochondrale n'est pas le seul mode de formation des arcs vertébraux, elle s'accompagne par exemple parallèlement, chez la Truite et le Cyprin, d'une ossification périchondrale (Blanc, 1953) (fig. 5) et d'une ossification de membrane, chez la jeune Anguille ou Civelle (Lopez, résultats inédits).

L'os très jeune des neurapophyses et des hémapophyses, comme l'os du corps vertébral, est de formation primaire, pourtant son aspect en est différent. Il présente une structure désordonnée (fig. 10), les fibres de la matrice de soutien n'ont pas d'orientation préférentielle, elles s'entrecroisent de façon anarchique. Entre nicols croisés, la texture de cet os apparaît tout à fait irrégulière, nous sommes en présence d'os fibreux ou os à gros faisceaux de fibres entrecroisées (fig. 10 - 11). Peu à peu au cours de la croissance, sous l'influence de divers facteurs, entre-autres les facteurs mécaniques, cet os fibreux s'organise ; il présente alors, chez l'adulte, le même aspect lamellaire que l'os constituant le corps vertébral (fig. 8 - 9). Chez l'Anguille, quelques îlots d'os fibreux, en général de forme triangulaire, persistent à la soudure entre apophyses et corps vertébral ; ils témoignent de la formation en deux temps de la vertèbre, cette soudure complète caractérise la vertèbre holospondyle des Téléostéens (fig. 8 - 9).

L'os lamellaire ou os à fines fibres parallèles, est formé de couches superposées, qui se distinguent très nettement sur coupes non décalcifiées observées en lumière transmise, ou mieux encore, en lumière polarisée. Elles présentent une forte biréfringence et polarisent dans les tons gris caractérisant l'apatite (fig. 12).

Il est généralement admis, chez les Mammifères, que l'os de formation primaire trouvé dans les premières étapes du développement est de l'os fibreux ou à gros faisceaux de fibres entrecroisés, alors que l'os de formation secondaire (n'apparaissant que dans les endroits où il y a de l'os préexistant) est de l'os lamellaire à fines fibres parallèles (Lacroix, 1951). Cette distinction ne peut entièrement s'appliquer au cas décrit ici, où un os de formation primaire peut être, au début de sa formation, soit lamellaire (corps vertébral) ou fibreux (arcs vertébraux) selon son origine. Mais comme cela est courant, chez les Mammifères, l'os fibreux évolue généralement en os lamellaire au cours de sa maturation.

Chez les Poissons adultes étudiés, l'os lamellaire compact ne présente jamais de véritables ostéones, il ne devient spongieux que dans les apophyses hémales où nous observons, chez l'Anguille, des cavités remplies de moelle osseuse. Dans les vertèbres comprises entre la région cervicale et l'anus, les hémapophyses sont très ramifiées ; dans les vertèbres caudales, où elles forment un arc plus complet, elles sont simples et creusées seulement parfois de quelques cavités. Bien que l'on ne rencontre pas

Source : MNHN, Paris

de systèmes de Havers typiques, cet os lamellaire compact ou spongieux est remodelé d'une façon très importante ; on distingue nettement, par endroits, des appositions osseuses d'origine secondaire (fig. 16), l'os formé secondairement prend très rapidement l'aspect d'os lamellaire. De ce remaniement résultent des modifications dans la direction des lamelles osseuses, très aisément décelables à l'examen en polarisation (fig. 16).

3°) Les tissus fibreux, importance des fibres de Sharpey

Chez les espèces de Poissons Téléostéens étudiées, le tissu osseux vertébral est très riche en fibres, celles-ci se devinent souvent à l'observation courante et sont nettement discernables en contraste de phase. Sur coupes non décalcifiées, certains faisceaux de fibres sont en lumière transmise, très sombres, presque noirs, ceci est dû à un défaut de minéralisation contrôlable sur la microradiographie de la coupe correspondante ; ils y apparaissent en régions sombres par rapport à la substance osseuse environnante, donc plus faiblement minéralisées. De plus, au niveau des neurapophyses et des hémapophyses, de nombreux et importants faisceaux de fibres, en relation avec le chorion, pénètrent dans l'os lamellaire perpendiculairement à la direction des lames osseuses (fig. 13-14). Sur coupes non décalcifiées, ces fibres se colorent très nettement, au sein de l'os, avec la fuchsine basique et sont PAS +, à un certain moment de leur parcours elles se fondent dans le tissu osseux. Sur coupes non décalcifiées, de 600 Å d'épaisseur, observées au microscope électronique (fig. 15), nous avons constaté qu'en certains endroits elles se calcifient, alors elles ne sont plus distinctes du milieu environnant. Ces fibres sont assimilables aux fibres de Sharpey de l'os des Mammifères (Moss, 1961) ; chez ces derniers, il est admis qu'elles représentent à l'origine (Smith, 1961) des fibres extra osseuses incluses ensuite dans l'os pendant sa croissance, ceci est typiquement le fait en ce qui concerne l'os décrit ici. Les faisceaux de fibres de Sharpey tiennent une place importante dans l'os cellulaire des Téléostéens.

4°) Problème de l'irrigation du tissu osseux cellulaire

Il n'y pas dans l'os cellulaire vertébral des Poissons d'importants vaisseaux sanguins, mais en certains endroits de fins capillaires. De quelle façon en est alors assurée l'irrigation et comment des échanges avec le milieu extérieur semblent-ils possibles ?

Les tissus bordant les surfaces osseuses vertébrales sont très abondamment irrigués, de ce fait, de petits capillaires pénètrent dans l'os avec les faisceaux de fibres venant de l'extérieur ; on rencontre aussi de très nombreux capillaires dans les cavités de l'os spongieux.

Ainsi que nous l'avons déjà indiqué, cet os cellulaire n'est en aucun cas un tissu dense comme peut l'être l'os haversien des Mammifères ; de plus, la couche osseuse qui constitue la vertèbre est relativement peu épaisse et extrêmement découpée puisque divisée en corps et en arcs vertébraux. Les phénomènes de transports, à l'intérieur d'un tel tissu, se font probablement d'une part, par l'intermédiaire des capillaires voies de 3ème ordre (Testut, 1904), et d'autre part par le milieu circulant dans les canalicules cellulaires. Ces canalicules (fig. 21, dont nous reparlerons à propos des ostéocytes) sont souvent, par exemple, chez l'Anguille, le Congre et le Cyprin, extrêmement ramifiés ; ils constituent avec les lacunes ostéocytaires ce que l'on appelle les voies du 4ème ordre (Wassermann, 1956), voies de passage ouvertes à tous les ions présents dans les liquides extracellulaires. De plus, nous avons souligné l'importance, dans cet os, du réseau fibreux de Sharpey ; il confère, en partie, à l'os des Poissons, en divisant la trame organique, la texture lâche observée. L'on peut supposer aussi que, dans certaines conditions, l'alimentation puisse se faire par simple imbibition des espaces interstitiels de la matrice osseuse, ceux-ci constituant les voies de passage de 5ème ordre (Baud et Morgenthaler, 1963, 1964).

Source : MNHN, Paris

5°) Conclusions

Le mode d'ossification, en plusieurs points, de la vertèbre amphicœle, holospondyle (c'est-à-dire à soudure complète) des Poissons Téléostéens, bien qu'étant considéré comme un caractère évolué, n'est pas l'apanage de ce groupe. L'on trouve aussi des vertèbres holospondyles, arcocentrales et autocentrales chez les Sélaciens, mais elles sont entièrement cartilagineuses, là se situe la différence.

Chez les Poissons Téléostéens étudiés, l'os cellulaire constituant la vertèbre se présente, à quelques détails près — absence d'ostéones typiques, texture lâche, irrigation non organisée — sous les mêmes aspects que celui des vertébrés supérieurs les plus évolués, les Mammifères. Comme chez ceux-ci, il est souvent fibreux au début de sa formation, puis évolue en prenant une structure lamellaire ; de plus, il se forme en grande partie par véritable ossification endochondrale.

3 564 008 6

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE II

STRUCTURE HISTOCYTOLOGIQUE DU TISSU OSSEUX CELLULAIRE

1°) Introduction

Qu'il soit d'origine primaire ou secondaire, fibreux ou lamellaire, l'os cellulaire est constitué des mêmes éléments. Certaines cellules procèdent à sa formation ; puis, tandis que les véritables cellules osseuses, situées au sein d'une matrice organique calcifiée, participent à sa vie métabolique, d'autres sont uniquement chargées de le détruire.

La fonction déterminée de chaque catégorie cellulaire va de pair avec une morphologie et une position caractéristiques, autant de critères de détermination que nous nous proposons de définir.

2°) Les ostéoblastes et les cellules bordantes

Les observations faites sur coupes décalcifiées ou sur coupes non décalcifiées, même après forte coloration à la fuchsine basique, ne nous ont permis, en aucun cas, de mettre en évidence une membrane fibreuse périostique. Toutes les bordures osseuses observées sont accompagnées de tissu conjonctif formé de fibres espacées les unes des autres et orientées parallèlement à la surface de l'os ; elles voisinent avec une population de cellules d'allure fibroblastique (fig. 17). Ces fibroblastes ont une forme allongée, un cytoplasme très basophile et des noyaux ovoïdes ; ils présentent de nombreuses mitoses et comme nous l'avons déjà signalé, de telles cellules migrent et donnent naissance, dans les régions d'ossification endochondrale, à des ostéoblastes capables de synthétiser de l'os. Cette zone cellulaire, indifférenciée, constitue certainement le réservoir des cellules souche des cellules osseuses (Leriche et policard, 1928).

Le long des couches osseuses nous trouvons, associés à ces cellules mésenchymateuses peu différenciées des cellules bordantes et des ostéoblastes (fig. 17). Ceux-ci sont toujours disposés en couche monocellulaire recouvrant étroitement l'os. Les ostéoblastes se présentent généralement comme de petites cellules cubiques, ou légèrement aplaties, à membrane peu distincte dont le noyau ovalaire est situé au pôle proximal, c'est-à-dire dans la partie la plus proche de l'os ; ce noyau est particulièrement bien coloré par la fuchsine basique et par le Bleu de Toluidine (orthochromatiquement) et sur coupes décalcifiées par l'hématoxyline de Harris. Le cytoplasme de ces ostéoblastes est en général clair avec quelques fines granulations, ce qui le distingue du cytoplasme des cellules homologues mammaliennes qui est décrit comme étant fortement basophile (Pritchard, p. 187, 1956) ; il ne présente pas de ramifications et l'aspect étoilé signalé chez les Vertébrés supérieurs (Pritchard, p. 208, 1956) n'est jamais rencontré, tout au moins à l'observation en microscopie photonique. Nous avons toutefois remarqué que la forme des ostéoblastes était variable, et ceci suivant leur degré d'activité. Ils sont, en certains endroits (fig. 17), très plats avec un noyau si mince qu'ils sont à peine différenciables de la surface osseuse qu'ils bordent et qui, dans ce cas, est toujours au repos ; constatation faite sur la radiographie correspondante. Ces ostéoblastes, éloignés les uns des autres, sont alors peu différents des cellules environnantes, ce sont les cellules bordantes décrites pour la première fois, chez les Mammifères, en micros-

Source : MNHN, Paris

copie électronique par Cooper et al. (1966), puis par Baud (1968 b) ; il se produit certainement, avec l'arrêt des fonctions ostéogéniques de la cellule, une dédifférenciation de celle-ci, probablement réversible sous l'action de certains stimuli, en particulier hormonaux.

Le long des lames osseuses en construction ou reconstruction, les ostéoblastes ont un tout autre aspect (fig. 18-19) : toujours de forme ovalaire, ils présentent un cytoplasme très renflé, en dôme, finement granuleux après coloration à la fuchsine basique, ces granulations sont aussi PAS + ; le noyau est saillant, peu basophile, avec un ou plusieurs nucléoles très apparents. Alors certaines cellules fibroblastiques voisines apparaissent aussi nettement stimulées (fig. 20).

Bien que présentant toutes les caractéristiques de cellules actives, les ostéoblastes semblent ne jamais se diviser par mitose ; ils ne peuvent, et c'est aussi le cas chez les Vertébrés supérieurs, donner naissance à d'autres cellules de la même espèce. Issus de cellules souches indifférenciées, les ostéoblastes représentent un stade de transition dans la transformation des « cellules ostéoprogénitrices » (Young, 1962 a) en véritables cellules osseuses ou ostéocytes. De plus, chez les Poissons, comme nous le verrons par la suite, leurs potentialités ne sont pas unidirectionnelles.

3°) Les ostéocytes, formule ostéocytaire

Les ostéoblastes procèdent à la formation du tissu osseux et peu à peu ils se trouvent enchâssés dans les différentes couches calcifiées qu'ils élaborent, c'est alors qu'ils se transforment en cellules osseuses proprement dites ou ostéocytes (fig. 21) ; ils sont logés dans une lacune ostéocytaire, l'ostéoplaste (fig. 23-24). Dans les couches osseuses très jeunes, ils gardent l'aspect ostéoblastique de petite cellule ovoïde, les parois de la lacune sont lisses et de celles-ci partent des canalicules dans lesquels le corps cellulaire se prolonge par de fins processus cytoplasmiques. Puis, au fur et à mesure de leur maturation, cellule et lacune changent d'aspect, cette dernière apparaît souvent plus grande et à contours moins réguliers, l'ostéocyte prend alors une forme caractéristique de l'espèce étudiée. Chez l'Anguille, le Congre et le Cyprin (fig. 21-22), les ostéocytes sont en forme d'araignée dans les neurapophyses et les hémapophyses, mais plus globuleux dans le corps vertébral ; ces ostéocytes possèdent de nombreuses arborisations se prolongeant dans des canalicules extrêmement ramifiés mettant en communication les différentes cellules entre elles. Chez la Truite (fig. 24), les cellules osseuses sont de forme plus simple, avec seulement quelques ramifications partant des deux pôles de l'ellipse ostéoplastique.

Si l'on établit une comparaison avec les Vertébrés supérieurs, les ostéoplastes sont en moyenne plus grands chez les Poissons étudiés que chez la Souris, mais de dimensions à peu près comparables à celles des mêmes éléments de l'os humain. Chez l'Anguille adulte par exemple, leurs différents diamètres sont de 3,33 μ — 19,98 μ — 29,95 μ pour 2,87 μ — 9,50 μ — 17,30 μ chez la Souris et 6,14 μ — 12,74 μ — 24,90 μ, dans la diaphyse fémorale humaine (Baud et Weber Slatkine, 1961). La densité en ostéocytes de l'os cellulaire des Poissons est relativement faible et ce fait est sensible à l'observation courante ; un comptage des cellules osseuses a été réalisé chez l'Anguille adulte, nous en avons dénombré 380/mm^2 de tissu osseux vertébral (comptage fait sur coupes de 10 et 15 μ d'épaisseur), aucune différence n'étant décelable entre l'os du corps vertébral et celui des arcs vertébraux. Dans le cas de la jeune Truite (18 g < poids < 20 g) vivant en eau du robinet c'est-à-dire dans les mêmes conditions que l'Anguille, pour un nombre de lacunes égal à 678/mm^2, le nombre des ostéoplastes vides et agrandis est très élevé (fig. 48), soit 24, 2 % pour 9,6 % d'ostéocytes situés dans des lacunes agrandies ou entourées d'un halo de déminéralisation, et 66,2 % d'ostéocytes situés dans de petites lacunes. L'étude de l'os de Truites plus âgées (poids : 250 g) nous a permis de constater, ainsi que nous le supposions, que l'ostéolyse (phénomène de résorption de l'os par les ostéocytes) agit alors comme un mécanisme assurant la réduction du nombre des ostéocytes : ceux-ci deviennent ostéolytiques c'est-à-dire qu'ils résorbent la substance osseuse qui les entoure avant de dégénérer, et ensuite la lacune se calcifie, c'est le phénomène de micropétrose décrit chez les Mammifères par Frost, 1960, (observation vérifiée, lors d'une étude au microscope électronique de l'os de l'Anguille). En effet le nombre des ostéoplastes, chez la Truite adulte, est de 428/mm^2, c'est-à-dire comparable à la densité cellulaire observée chez l'Anguille ; le taux d'ostéolyse est de 5 % alors

Source : MNHN, Paris

qu'il est en moyenne de 4,5 % dans l'os de l'Anguille adulte. Comme chez cette dernière les lacunes agrandies vides sont rares.

Chez l'Homme et divers autres Mammifères, KNESE et KNOPP (1961) et KNESE et VON HARNACK (1962) ont remarqué que la densité cellulaire diminue au fur et à mesure du vieillissement de l'os, elle est de 1230 /mm² chez le fœtus et de 750 /mm² chez l'Homme adulte de 43 ans, comme nous le constatons, densité nettement supérieure à celle trouvée chez l'Anguille et la Truite adultes.

Il existe donc probablement, chez les Poissons à os cellulaire, au fur et à mesure de la maturation de l'os, un phénomène de réduction du nombre des cellules osseuses, celles-ci dégénèrent et ensuite les lacunes sont comblées par micropétrose.

Quel est l'aspect de la cellule osseuse observée au sein de sa lacune ? Le noyau de l'ostéocyte jeune est clair, avec quelques granules de chromatine très fins, colorés par le Bleu de Toluidine ou par la fuchsine basique sur coupes non décalcifiées (fig. 23-24) ; puis dans une cellule plus âgée ce noyau peut devenir très basophile, il se colore alors en bleu foncé avec le Bleu de Toluidine. Dans certains cas, le réseau de chromatine n'est plus visible, le cytoplasme semble se rétracter, la cellule devient pycnotique et meurt. Lorsqu'il s'agit de coupes non décalcifiées, colorées — à la fuchsine basique, au PAS ou au Bleu de Toluidine — le rebord des canalicules et des ostéoplastes est basophile (fig. 23-24) PAS + et métachromatique avec le Bleu de Toluidine, ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par BAUD et DUPONT (1961) chez la Souris ; nous pouvons conclure, comme ces derniers l'ont fait, à la présence de mucopolysaccharides acides. BAUD (1962) a par la suite montré, chez la Souris, au microscope électronique, l'existence d'une gaine limitante riche en mucopolysaccharides séparant l'ostéocyte et ses prolongements de la paroi de la lacune et des canalicules. Nous pouvons supposer que, chez les Poissons, les réactions histochimiques étant semblables, cette limitante mucopolysaccharidique existe aussi ; nous nous proposons d'éclaircir ce point au cours d'un travail ultérieur en faisant usage du microscope électronique.

4°) LA SUBSTANCE INTERCELLULAIRE

Les ostéocytes sont situés au sein d'une matrice synthétisée par les ostéoblastes, cette substance est formée, en grande partie, d'une trame fibreuse très aisément observable en contraste de phase ou au microscope électronique sur coupes de 600 Å (fig. 25-26). Cette trame est faite de collagène et aussi de différents faisceaux de fibres de Sharpey qui se trouvent inclus dans l'os, au cours de sa formation. L'ensemble de ce réseau est lâche, entre le lacis des fibres subsistent de nombreux méats (fig. 15-26).

Sur coupes non décalcifiées, dans les régions faiblement minéralisées, la substance intercellulaire est fortement PAS + et métachromatique avec le Bleu de Toluidine, coloration caractérisant la présence, entre les fibres, d'une substance fondamentale de nature polysaccharidique d'ailleurs similaire à celle des autres Vertébrés (MOSS et FREILICH, 1963). La structure chimique de la substance fondamentale de l'os des Vertébrés supérieurs est très mal connue, certains estiment qu'elle constitue un gel dont l'hydratation pourrait varier dans des proportions plus ou moins grandes (VAES, 1967). La matrice extracellulaire constituée de collagène et de mucopolysaccharides se calcifie peu à peu, les cristaux de phosphate de calcium se déposent sur les fibres et entre les fibres. Une étude de l'os de l'Anguille, par diffraction électronique, nous a permis de confirmer la présence d'hydroxylapatite typique déjà mise en évidence dans l'os acellulaire des Téléostéens par MOSS et POSNER (1961). Une analyse par diffraction des rayons X (LOPEZ et al., 1970) a montré la présence, à côté du phosphate de calcium cristallisé de phosphate de calcium amorphe (ce résultat sera étudié par la suite). En ce qui concerne l'os des Mammifères, de nombreux auteurs font remarquer (dans VAES, 1967), qu'au cours du processus de minéralisation, il y a élimination progressive de l'eau liée à la matrice organique, ce qui aboutit à un blocage presque complet des possibilités de diffusion au sein de la matrice totalement minéralisée ; l'os devient ainsi un os de « structure », par opposition à l'os « métabolique » jeune, dans lequel la matrice peu minéralisée permet plus facilement le passage des liquides extracellulaires et, de ce fait, les échanges minéraux (VINCENT, 1963).

BLANC (1953) signale que le squelette des Poissons présente une plus faible minéralisation que celui des Vertébrés supérieurs, il base cette affirmation uniquement sur l'observation qu'il a faite de

Source : MNHN, Paris

la consistance relativement molle du matériel qu'il emploie. Nous ne pouvons entièrement confirmer cette assertion, le degré de minéralisation chez les différentes espèces étudiées n'est que peu souvent inférieur à 1 gr d'hydroxylapatite/cm³ d'os, fréquemment même supérieur à cette valeur et peut atteindre en moyenne 1,20 g/cm³ chez l'Anguille, le Congre et le Cyprin, et 1,30 g chez la jeune Truite ; ce taux de minéralisation, si on considère uniquement la substance intercellulaire, n'est en réalité pas différent de celui de l'os alvéolaire humain (mesuré d'après la même méthode, Habbes, 1967), lui-même comparable à celui de l'os des autres parties du squelette. Comme nous l'avons déjà fait remarquer, nous pensons que la consistance molle de l'os des Poissons est due, en partie tout au moins, au fait que la substance interlacunaire est entrecoupée de nombreuses travées de tissus fibreux non calcifiés et à sa non organisation en systèmes de Havers. Du fait de sa structure peu dense, de son réseau de lacunes et canalicules, ce tissu laisse une large place aux liquides extracellulaires ; les échanges minéraux peuvent, en conséquence, se faire aisément en tous ses points ; l'absence d'irrigation organisée est ainsi, à notre avis, en partie compensée.

5°) Les ostéoclastes

C'est Kölliker (1859) qui le premier appela « ostéoclaste » les grandes cellules osseuses plurinucléées, qui, dans l'os des Mammifères, sont disposées dans des logettes les « lacunes de Howship », elles peuvent aussi d'une façon caractéristique coiffer un spicule osseux ; il pense déjà à cette époque que ces cellules sont des agents de destruction de l'os. Pendant longtemps il y eut controverse quant à leur rôle ; en 1956, Haneox se range à l'avis de Kölliker et depuis la participation des ostéoclastes à l'érosion osseuse a été clairement démontrée.

Chez les Poissons, jusqu'ici, le problème de l'existence des ostéoclastes subsistait. Stephan (1900) et Blanc (1953) décrivent des cellules multinucléées qui, d'après les dessins reproduits par le premier, ressemblent plus à des polynucléaires qu'à des ostéoclastes typiques ; ils n'observent jamais ces cellules dans leurs lacunes d'érosion et ils ne mentionnent pas leur présence dans les régions d'ossification endochondrale. Norris et al. (1963) et Moss (1963) remarquent l'absence d'ostéoclastes dans l'os acellulaire des Téléostéens (c'est-à-dire dépourvu d'ostéocytes mais non de cellules bordantes, ni d'ostéoblastes) ; Moss (1963) ne signale leur présence (mais sans fournir de clichés) que chez des animaux atteints de fractures. Pourtant, un fait certain ressort de ces différentes études, les surfaces osseuses présentant des signes de résorption sont, dans tous les cas, importantes.

L'étude sur coupes non décalcifiées, après coloration en masse, nous a permis de mettre en évidence, chez les différentes espèces étudiées, de très grosses cellules multinucléées ayant tout à fait l'aspect d'ostéoclastes (fig. 27-28). Elles sont soit accolées à la surface osseuse (fig.29), soit profondément enchâssées dans leur lacune d'érosion caractéristique, la lacune de Howship (fig. 27) ; quelquefois comme cela est typique chez les Mammifères, elles coiffent un spicule osseux (fig. 30). Chez la Truite et le Cyprin, on les rencontre surtout résorbant l'os jeune formé près du cartilage (fig. 5-6-7) ; ce sont des cellules volumineuses, oblongues ou sphériques, avec un cytoplasme finement granuleux (fig. 31-32) ; celui-ci prend avec la fuchsine basique une coloration carmin, très caractéristique, car différente de la coloration rouge donnée, aux organites des autres cellules, par ce colorant. Entre la surface de résorption et la cellule ostéoclastique l'on distingue, parfois, une région floue, légèrement striée, correspondant semble-t-il à la bordure digitée classiquement décrite (Haneox et Boothroyd, 1963). Une distinction entre deux types d'ostéoclastes peut être faite : les premiers (fig. 33-34) sont des cellules plus volumineuses que les cellules bordantes avoisinantes, elles ont un cytoplasme granuleux caractéristique, mais un seul noyau avec de gros granules de chromatine, elles correspondent très certainement au stade préostéoclaste décrit par Schenk et al. (1969). Les seconds sont les très grosses cellules polymorphes précédemment décrites (fig. 31-32) pourvues de plusieurs noyaux sphériques, clairs à chromatine peu abondante répartie en mottes ; les nucléoles sont volumineux, souvent nombreux et très colorables.

Quelle est l'origine des ostéoclastes ? Elle est encore souvent discutée à propos de l'os des Mammifères, mais il est à présent généralement admis qu'ils résultent de la fusion de certaines cellules ostéoprogénitrices (Young, 1962 a). Les observations faites sur l'os des Poissons, au cours de ce travail, per-

Source : MNHN, Paris

mettent de montrer qu'il s'agit ici du même processus de formation (fig. 6-34-36) ; les cellules plurinucléées semblent bien résulter de la fusion des précurseurs mononucléés, que nous avons appelés préostéoclastes, ceux-ci provenant de la différenciation de certaines cellules mésenchymateuses environnantes.

6°) Conclusions

Les diverses catégories de cellules, constituant l'os cellulaire des Poissons, sont très peu différentes de celles rencontrées dans l'os des Vertébrés supérieurs. Elles présentent, à quelques légères différences près, le même aspect que leurs homologues mammaliennes ; de plus, la présence d'ostéoclastes typiques n'est plus à discuter.

Les ostéoblastes donnent naissance à des ostéocytes, véritables cellules osseuses, nous nous trouvons là devant la différence fondamentale existant entre l'os cellulaire et acellulaire des Téléostéens. Mais si, dans l'os acellulaire, il y a absence d'ostéocytes, les cellules ostéoprogénitrices et les cellules bordantes sont probablement représentées puisque des ostéoblastes typiques sont décrits (Norris et al., 1963 ; Moss, 1963). Rien ne permet donc, d'après les observations faites au cours de ce travail, sur l'origine des ostéoclastes chez les Poissons, d'expliquer l'absence de ceux-ci, dans l'os sans ostéocytes, comme étant dépendante du caratère acellulaire de ce tissu.

Il peut exister différentes catégories cellulaires de transition entre les cellules ostéoprogénitrices, qui viennent de la différenciation irréversible de cellules mésenchymateuses diverses, et les formes spécialisées actives que sont les ostéoblastes et les ostéoclastes. Ces états spécialisés seraient temporaires, nous l'avons montré en ce qui concerne les ostéoblastes, ils ne persisteraient que sous l'action des stimuli qui leur donnent naissance. La différenciation des cellules ostéoprogénitrices, n'est sans doute pas irréversible, il y aurait ((Vaes, 1967) une « modulation réversible » entre ces dernières et les différentes formes cellulaires fonctionnelles décrites.

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE III

MODE DE FONCTIONNEMENT DU TISSU OSSEUX CELLULAIRE

1°) Introduction

Le squelette des Poissons est doué d'une capacité de croissance illimitée et de possibilités de réparation beaucoup plus étendues que celui des Vertébrés supérieurs (Blanc, 1953). Tout au long de la vie l'os des Téléostéens subit de très profondes modifications, on peut, par exemple, observer des phénomènes d'ostéogenèse à côté d'os déjà adulte. Cet os adulte est le siège d'un remaniement intense qui résulte, en grande partie, de l'action des diverses cellules décrites précédemment ; les surfaces osseuses qu'il affecte se présentent sous des aspects particuliers, très caractéristiques, ayant une signification précise.

L'os cellulaire des Poissons est un tissu actif, sa morphologie et son métabolisme minéral dépendent de phénomènes importants, à savoir, l'apposition, la résorption et les échanges de calcium qui peuvent se faire entre la substance intercellulaire et le milieu environnant.

2°) Synthèse et apposition

a) *Rôle des ostéoblastes*

Les ostéoblastes sont les cellules responsables de la synthèse du tissu osseux ; du fait de leur nette polarité par rapport à l'endroit de formation de la trame osseuse, leur rôle était soupçonné depuis longtemps, il est aujourd'hui clairement démontré (Pritchard, 1956 ; Carneiro et Leblond, 1959 ; Young, 1962 a, 1964). Ces cellules synthétisent les protéines nécessaires à la formation de la matrice organique, ainsi que les mucopolysaccharides qui voisinent avec le collagène, cette dernière fonction peut expliquer la présence des granules PAS + observés dans leur cytoplasme. Des résultats récents, obtenus au microscope électronique (Ascenzi et Bonucci, 1971 ; Bonucci, 1971), venant s'ajouter à de plus anciennes constatations tendent à montrer que les ostéoblastes participent aussi au processus de calcification en sécrétant « des globules calcifiés » ou « extrusions ostéoblastiques calcifiées » qu'ils rejettent sur la substance organique en voie de minéralisation. En accord avec Blanc (1953) nous remarquons que, chez les Poissons, l'apparition des ostéoblastes caractérise un des tout premiers stades de l'ostéogenèse (fig. 4). De plus, ceux-ci se présentent sous des aspects divers qui correspondent à plusieurs degrés d'activité. Lorsqu'ils sont plats (fig. 17) et peu différents des cellules environnantes (ce sont alors de simples cellules bordantes), ils bordent des couches osseuses fortement minéralisées dont les surfaces montrent, sur les microradiographies, un liseré très opaque aux rayons X, caractéristique des régions osseuses au repos (fig. 38). Lorsqu'ils ont un noyau renflé et un cytoplasme abondant, c'est-à-dire lorsqu'ils sont stimulés, ils sont accolés à une couche d'aspect stratifié (fig. 18), colorée en rouge (sur coupes non décalcifiées) par la fuchsine basique et orthochromatiquement par le Bleu de Toluidine, donc peu minéralisée. Cette région, à la radiographie, apparaît comme une surface à contour lisse, régulier, limitant une substance osseuse peu opaque aux rayons X, nous trouvons là réunis tous les critères

Source : MNHN, Paris

caractérisant le phénomène d'apposition (fig. 37). Ce tissu fibreux prenant les colorants, donc encore faiblement minéralisé, est en général appelé, par les spécialistes, tissu ostéoïde ; nous n'emploierons pas ce terme car, chez les Poissons, il sert à désigner l'os acellulaire, nous qualifierons cette région, sous-jacente des ostéoblastes stimulés, de substance préosseuse. Les régions en cours d'apposition sont décelables sur les coupes, mais encore, avec plus de finesse, sur les microradiographies correspondantes.

La Tétracycline constitue un autre moyen de mettre en évidence le tissu osseux en formation. D'après Titus et al. (1957-58) celle-ci serait liée dans l'os, soit directement à la substance minérale, soit à la matière organique par l'intermédiaire de cations métalliques ; en effet Weinberg (1957) observe que la Tétracycline présente une structure avec de nombreux sites où la chélation du calcium peut se produire. Baud et Dupont (1962) ont montré que la lumière de fluorescence émise par le tissu osseux traité par cet antibiotique est linéairement polarisée ; ce qui prouve que les molécules de cette substance, fixées à la matrice osseuse, sont disposées parallèlement entre elles et orientées régulièrement par rapport à la texture de l'os. De plus, Milch et al. (1961) constatent que la distribution de la Tétracycline dans l'os est à peu près identique à celle du ^{45}Ca.

Nous avons observé, chez l'Anguille adulte, après marquage par l'achromycine V (le sacrifice des animaux ayant lieu trois jours après l'injection) qu'en grande partie les surfaces fluorescentes, jaune vif en UV, correspondent à des surfaces en résorption (fig. 39) ; nous avons, dans le cas d'un sacrifice plus tardif (8 jours après l'injection), pu mettre en évidence des régions plus faiblement marquées correspondant à des zones en cours d'apposition (fig. 40). Ce marquage se caractérise surtout par une lumière de fluorescence pâle un peu diffuse, la fluorescence des surfaces en résorption ayant alors nettement diminué.

La Tétracycline marque non seulement les surfaces en apposition mais aussi, dans certains cas, les endroits où la matrice organique est en cours de minéralisation complémentaire (Harris et al., 1962). Elle se fixe, de plus, aux endroits où, du fait de la résorption, la minéralisation est plus faible, l'activité chimique et métabolique forte et le calcium facilement mobilisable (Jowsey, 1963 ; Dupont, 1964 ; Duriez et al., 1965). D'après les nombreuses études faites chez les Mammifères, il apparaît qu'un marquage des surfaces en résorption a lieu aussi dans les premières heures qui suivent l'injection, mais celui-ci disparaît très rapidement, ce phénomène est, semble-t-il, beaucoup moins rapide chez les Poissons ; par exemple Simmons et al. (1970) remarquent chez un Téléostéen, (Opsanus tau) que la vitesse d'excrétion de la Tétracycline est très lente.

Les couches d'os, nouvellement apposées, sont aisément décelables, en particulier lors de l'observation des coupes non décalcifiées en polarisation (fig. 16). L'apposition peut avoir eu lieu sur une surface au repos fortement minéralisée et dans ce cas nous distinguons, sur la microradiographie (fig. 38) un liseré très opaque aux rayonx X « la ligne cimentante » (Lacroix, 1970) qui correspond probablement aux annuli décrits par Castanet et al. (1970) dans l'étude de la zonation déterminée par la croissance cyclique chez les Poïkilothermes ; ou bien cette apposition s'est faite sur une ancienne surface de résorption (fig. 16), l'orientation des lames osseuses apparaît alors totalement différente. Amprino et Godina (1954) ont souligné l'importance de ce remaniement dans la vertèbre de Thon (Thunnus Thynnus).

b) *Rôle des ostéocytes*

Blanc (1953) qualifie les ostéocytes de l'os des Poissons « de cellules relativement peu actives et à qui on peut tout au plus attribuer un rôle trophique de l'os déjà constitué ». Le rôle joué par les ostéocytes dans l'os des Mammifères est depuis fort peu de temps reconnu (Lipp, 1954 ; Baud et Morgenthaler, 1963 ; Baud, 1968 a et b ; Baylink et Wergedal, 1971) et il apparaît aujourd'hui être très important ; quel est-il dans l'apposition en ce qui concerne l'os des Poissons ?

Les ostéocytes dans l'os cellulaire des Téléostéens se forment de la même manière que chez les Vertébrés supérieurs, à partir des ostéoblastes, il est donc logique de supposer que leurs fonctions puissent être semblables à celles des cellules dont ils dérivent.

Lors de l'étude des ostéocytes, nous avons souligné qu'en général ils ont — au début de leur formation, dans les couches osseuses nouvellement formées — une forme ovalaire et sont situés dans une lacune aux rebords très lisses et réguliers comme c'est le cas chez les Mammifères (Baud et Weber

Source : MNHN, Paris

Slatkine, 1961). Dans le cadre de nos observations, le rebord de ces lacunes jeunes est le plus fortement marqué, à la fois par la Tétracycline (fig. 42, le sacrifice des animaux ayant lieu huit jours après l'injection) par le ^{45}Ca et aussi par la glycine tritiée incorporée dans la matrice organique (fig. 41). Afin de montrer, avec la Tétracycline, un phénomène réel d'apposition sur le rebord lacunaire, il faut supprimer l'artefact dû à la réflexion, sur la paroi des lacunes, de la lumière venant de régions voisines fortement fluorescentes. Il est nécessaire pour cela, à l'aide du diaphragme, d'éliminer, du champ du microscope, les bordures marquées. Le marquage par la Tétracycline et le ^{45}Ca met en évidence l'apposition minérale, le marquage par la glycine tritiée la synthèse de protéines. Ces résultats concordent parfaitement avec ceux obtenus chez les Mammifères par Young (1962) a et b, Dupont (1964) et Baud et Dupont (1965) ; ils montrent que les ostéocytes continuent très lentement le processus d'ostéogenèse ayant, sans aucun doute, gardé cette potentialité de leur origine ostéoblastique.

Au cours de leur maturation, les ostéocytes évoluent et changent de forme ; ainsi que nous l'avons montré, elle peut être caractéristique d'une espèce étudiée (fig. 21-22). Les ostéoplastes deviennent moins réguliers, leurs parois sont cependant encore marquées, en certains endroits, mais beaucoup plus rarement.

C'est Baud et Morgenthaler (1963) qui les premiers, à la suite d'observations au microscope électronique, ont observé dans l'os des Mammifères le phénomène de formation secondaire de matrice périlacunaire. Dupont (1964) a démontré, chez la Souris, que ces marquages des lacunes les plus anciennes, mettant en évidence de légers phénomènes d'apposition, correspondent à des petits processus de remodèlement ou à une minéralisation complémentaire de la substance osseuse ; ils ne mettraient en évidence que très rarement des échanges de calcium rapides entre la substance osseuse et le sang. Bayliss et Wergedal (1971), se basant surtout sur l'observation de phénomènes d'apposition au niveau de jeunes ostéocytes de Mammifères pensent que ces cellules sont impliquées dans les échanges rapides de calcium entre l'os et le sang ; ils s'appuient pour cela sur trois constatations, dont la principale est que la labilité du minéral périlacunaire semble plus grande que celle du minéral interlacunaire.

c) *Conclusions*

Les ostéoblastes assurent la formation du tissu osseux en synthétisant la trame protéique qui sert de support au processus de minéralisation phosphocalcique auquel ils participent probablement (Bonucci, 1971). L'apposition ostéoblastique de tissu osseux secondaire se fait en surface et pendant toute la vie de l'animal, ce fait n'est plus caractéristique de l'os des Poissons car une apposition périostique continue a récemment été mise en évidence chez l'homme adulte par Garn (1970). Cette formation permanente d'os nouveau permet la croissance, contribue à la morphogenèse de l'os, tout en jouant un rôle important dans le métabolisme minéral.

Les légers phénomènes d'apposition, observés au niveau des ostéocytes (ostéoplasie) sont une des manifestations du remaniement interne du tissu osseux ; bien que discrets, leur importance n'est sans doute pas négligeable.

3°) La résorption

a) *La résorption ostéoclastique*

Les ostéoclastes, grosses cellules plurinucléées, sont, sans aucun doute, aujourd'hui considérées comme étant les principaux agents de la résorption osseuse (Bhaskar et al., 1956 ; Gaillard, 1957-59 et Goldhaber, 1960). La simple observation de leur situation — ils sont très souvent enfouis dans des cavités de résorption de l'os, les « lacunes de Howship » — laissait prévoir ce rôle. La microscopie électronique, chez les Mammifères, a permis de montrer que la digestion de la matrice organique précédée par la dissolution de la partie minérale est, en un premier temps, extracellulaire (Hancox et Boothroyd, 1963) puis, en un second temps, les éléments de cette digestion se retrouvent plus profondément au sein de la cellule dans des vacuoles digestives, les « phagosomes ». Vaes (1967) a montré que les lysosomes

Source : MNHN, Paris

présents dans le cytoplasme des ostéoclastes, riches en hydrolases acides, sont les principaux agents de cette résorption. Les ostéoclastes typiques sont décelables dans l'os cellulaire des Poissons, leur présence est constatée le long de surfaces fortement colorées par la fuchsine basique (fig. 27), il y a probablement, en ces endroits, début de déminéralisation, ce qui justifie la coloration intense obtenue ; ce front de décalcification induit pas les ostéoclastes peut, dans certains cas, s'étendre assez profondément (fig. 56).

Les couches osseuses, en résorption, sont identifiées sur coupes et microradiographies grâce à leur aspect bien caractéristique, rugueux, crénelé et souvent fortement entaillé (fig. 37-38). Chez les espèces étudiées, pour des animaux n'ayant subi aucun traitement, nous avons remarqué que la résorption ostéoclastique affecte préférentiellement les hémapophyses et les neurapophyses négligeant le corps vertébral constitué d'os plus compact.

Chez la Truite jeune, nous observons des surfaces osseuses érodées présentant, sur la coupe et sur la radiographie, toutes les caractéristiques du phénomène de résorption (fig. 43). Le long de ces lames d'os, nous décelons de très nombreuses petites cryptes tout à fait comparables aux lacunes de Howship (fig. 43) ; à l'intérieur de ces lacunes se trouvent des cellules mononucléées d'allure ostéoblastique. Ces cellules, que nous trouvons en contact avec les régions crénelées de façon constante sont, à n'en pas douter, responsables de la résorption observée. Bien que ressemblant aux ostéoclastes voisins, elles en diffèrent légèrement ; elles sont arrondies alors que ces derniers sont oblongs et leur noyau, moins basophile, est sphérique, clair avec seulement un nucléole et quelques granules de chromatine.

Cette observation faite aussi, mais plus rarement, chez les autres espèces étudiées (fig. 44), ne nous surprend pas car en effet déjà Prenant (1938), puis Blanc (1953) signalaient l'existence d'ostéoblastes situés « dans des fissures ou des poches pratiquées dans la substance osseuse » ; ces auteurs sont affirmatifs sur le rôle destructeur de l'os que peuvent jouer les ostéoblastes. Cette activité ostéoclastique des ostéoblastes permettrait d'expliquer la présence de granules de phosphate de calcium, observés par Blanc (1953), dans certaines de ces cellules.

Cette double potentialité des ostéoblastes peut, nous semble-t-il, être justifiée par le fait que ostéoblastes et ostéoclastes proviennent de la différenciation de mêmes cellules dites « ostéoprogénitrices » ; de nombreux auteurs partisans de la théorie de la « modulation réversible » (Vaes, 1967) décrivent, dans certains cas, une dédifférenciation des ostéoblastes au profit de ces cellules « ostéoprogénitrices » qui donneront naissance ensuite à des ostéoclastes typiques et inversement.

b) *La résorption ostéolytique (ostéolyse)*

Le pouvoir de résorption osseuse est souvent considéré comme étant l'apanage des ostéoclastes, une lyse des tissus osseux se faisant sans l'intermédiaire de ces cellules spécialisées était encore, il y a quelques années, difficilement admise.

Le remaniement périlacunaire, chez les Mammifères, a été suggéré par Lipp en 1954 ; en 1961 Baud et Weber-slatkine puis Baud (1962) furent les premiers à montrer, en microscopie électronique, l'aspect érodé que peut prendre l'ostéoplaste d'un ostéocyte mature. Ils associèrent immédiatement cet aspect à une fonction ostéoclastique de la cellule. Chez les Poissons, les ostéoblastes ont à la fois le pouvoir d'apposer et de résorber, les ostéocytes qui en dérivent sont capables d'apposer de l'os sur la lacune qui les entoure (Lopez, 1970 a) mais peuvent-ils aussi en résorber, ont-ils hérité de la dualité de fonction ?

La lacune ostéocytaire au fur et à mesure de son évolution prend souvent une forme irrégulière ; dans le tissu osseux des différentes espèces de Téléostéens étudiés, certains ostéocytes, même relativement jeunes, sont entourés d'un halo coloré, soit par la fuchsine basique, soit par le Bleu de Toluidine métachromatiquement, ou par le PAS (fig. 45). Cette coloration indique souvent une région en cours de déminéralisation, présentant, sur microradiographie, une très faible opacité aux RX (fig. 46-47). Les lacunes de ces ostéocytes apparaissent plus grandes sur les microradiographies que sur les coupes, elles sont en cours d'élargissement ; ainsi les ostéocytes sont fréquemment situés dans des ostéoplastes agrandis dépassant nettement les dimensions moyennes, ils sont alors considérés comme étant en fin d'ostéolyse ou bien en début d'ostéoplasie. Comme c'est le cas chez les Mammifères (Belanger et al.,

Source : MNHN, Paris

1963 ; Baud, 1966-1968 b), la substance intercellulaire perd donc, au voisinage immédiat de ces cellules, sa fraction minérale puis sa fraction organique ; cette décalcification est vraisemblablement induite par l'ostéocyte lui-même. Certains de ces ostéocytes ostéolytiques prennent un aspect nécrotique et meurent (fig. 46).

Pour qualifier, chez les Poissons, ce phénomène de destruction du tissu osseux par l'ostéocyte, nous emploierons le terme « d'ostéolyse » dans le sens de résorption périlacunaire ainsi que le préconisent Belanger et al. (1963) ; signalons que l'ostéolyse n'avait auparavant jamais été observée chez les Poissons, quelle est son importance ?

Nous remarquons (tableau I) que l'ostéolyse chez la Truite est plus forte que chez l'Anguille et le Congre. Cette différence peut être imputable au fait que les Truites étaient des animaux très jeunes, dont l'ossification n'était pas terminée et dont le squelette subissait encore de très profonds remaniements liés à une croissance active, alors que, pour les Anguilles et les Congres, nous étions en présence d'animaux plus âgés complètement ossifiés. Baud et al. (1968) et Baud et Auil (1971) ont montré que l'ostéolyse, chez l'homme, pouvait varier avec l'âge, le nombre des lacunes élargies dans l'os trabéculaire haversien diminuant jusqu'à 50 ans et ensuite augmentant.

TABLEAU I

Animaux	Pourcentage d'ostéocytes ostéolytiques	
1) Anguille (eau douce) n = 6	$3,1 \pm 0,1$ [a]	$1 \longleftrightarrow 2$ $P > 5\ \%$
2) Anguille (eau de mer) n = 6	$4,5 \pm 0,1$	
3) Congre (eau de mer) n = 3	$3,2 \pm 0,3$	
4) Truite jeune n = 5	$9,6 \pm 1,8$	$4 \longleftrightarrow 1$ $4 \longleftrightarrow 2$ $4 \longleftrightarrow 3$ $P < 0,01$
5) Truite adulte n = 3	$5 \pm 0,1$	

n = nombre d'animaux (tous immatures)
a : erreur standard

Dans l'os des Poissons étudiés, les lacunes agrandies sont le plus souvent situées dans les couches osseuses périphériques, les plus intimement en contact avec les liquides extracellulaires et ainsi les mieux irriguées ; cette observation est, sans doute, à rapprocher de la constatation faite par Norris et al. (1963), à savoir que dans l'os acellulaire la résorption s'accompagne toujours d'une invasion vasculaire. Comme c'est le fait pour la résorption ostéoclastique, l'ostéolyse atteint de préférence les arcs vertébraux, neuraux et hémaux. Il semble qu'il existe aussi, chez les Mammifères, des types d'os atta-

Source : MNHN, Paris

qués préférentiellement, les os plats de type spongieux seraient plus spécialement affectés (Belanger, 1966) et il existerait aussi une différence entre l'os trabéculaire et l'os compact (Baud et al., 1968) ; mais alors, contrairement à ce que nous observons habituellement chez les différentes espèces de Poissons étudiées, la résorption ostéocytaire opère au centre des travées, dans les couches plus fortement chargées en sels minéraux. Dans un cas cependant, lors d'une ostéolyse provoquée par injections d'E.D.T.A, chez le Chien, l'os ancien est moins affecté que l'os jeune (Belanger et al., 1963). Quel est le mécanisme de l'ostéolyse ? En 1963, Belanger et al. ont montré, chez le Rat, que les plus grands ostéocytes contenaient une enzyme protéolytique capable de digérer la gélatine, et en 1965, Woods et Nichols ont identifié dans un homogénat de cellules osseuses une activité collagénolytique ; Baud (1966, 1968 a, b) et Semba et al (1966) observent dans les ostéocytes adultes des corps comparables à des lysosomes et des vacuoles autophagiques quand l'ostéolyse est stimulée. C'est principalement cette dernière constatation que nous essaierons de vérifier lors d'une prochaine étude ultrastructurale de l'os des Poissons. Comme dans le cas de l'ostéoclasie, la digestion du tissu osseux est d'abord extracellulaire puis intracellulaire. La dissolution de la substance minérale est la première étape, elle se fait par l'intermédiaire de l'acide lactique alors que, par la suite, la dégradation de la matrice organique implique l'action d'enzymes hydrolytiques contenus dans les lysosomes particulièrement abondants dans les ostéocytes ostéolytiques (Baud, 1968, a, b).

c) *Le remaniement osseux, discussion*

L'apposition et la résorption peuvent se faire au niveau des surfaces de l'os aussi bien qu'au sein du tissu osseux, au niveau des ostéocytes. Les phénomènes de surfaces sont les plus importants, ils assurent ,en grande partie, le remaniement qui résulte de l'équilibre entre la résorption ostéoclastique et l'apposition ostéoblastique ; ce remaniement s'avère être important chez les Poissons.

Les modifications observées au niveau des ostéocytes (ostéoplasie et ostéolyse) sans être étroitement liées à la morphologie de l'os, contribuent à son renouvellement et à son métabolisme minéral.

En prenant comme exemple l'Anguille (Anguilles argentées ♀ et ♂ maintenues en eau douce) nous avons tenté d'évaluer quantitativement le remaniement, en mesurant le pourcentage des surfaces de résorption (R) et des surfaces en apposition (A) par rapport à la surface totale. Nous conviendrons de désigner par surfaces remaniées « S » la somme des surfaces A et R.

TABLEAU II

Évaluation du pourcentage des surfaces de résorption et d'apposition dans l'os de la colonne vertébrale de l'Anguille ♂ et ♀ ; les mesures sont faites sans établir de distinction entre corps vertébral et arcs vertébraux.

Anguilles	R %	A %	S %
♂ (pimpeneaux) n = 6	14,33 ± 1,83[a]	6,54 ± 0,74	20,87 ± 2,01
♀ argentées n = 6	15,64 ± 1,27	7,70 ± 0,78	23,34 ± 1,86
	P > 5 %	P > 5 %	P > 5 %

Résorption (R) et apposition (A) sont exprimées en % de la surface totale.
a : erreur standard.

Nous avons constaté (tableau II) après calcul statistique (par analyse de variance) que le pourcentage des surfaces A et R est le même chez les ♀ argentées que chez les ♂ argentés, le remaniement « S » de ce fait ne diffère pas entre ♂ et ♀. Si nous comparons nos résultats à ceux obtenus chez l'homme

Source : MNHN, Paris

(Neoir, 1967), nous avons un remaniement osseux (S) de 23, 34 ± 1,86 % chez les ♀ argentées et de 20,87 ± 2,01 % chez les ♂ (tableau II) à peu près comparable à celui trouvé dans l'os alvéolaire humain (17 à 25 ans, 31,0 % — 46 à 55 ans, 29,4 %). La valeur des critères utilisés pour ces évaluations, a été très bien exposée par Nedir (1967) ; nous sommes en effet obligés de considérer ces différents processus d'une façon un peu trop schématique et nous ne pouvons faire intervenir le facteur temps. Les mesures exprimées ne sont donc pas en réalité le reflet exact de la quantité d'os formé ou détruit par unité de temps. Compte tenu de ces imperfections, cette méthode constitue un bon moyen d'évaluer comparativement l'ordre de grandeur de ces divers phénomènes et aussi de mettre en évidence, au cours de l'expérimentation, leurs fluctuations.

4° Étude des variations du degré de minéralisation de la substance intercellulaire

a) *Accroissement du degré de minéralisation de la substance intercellulaire*

La substance interstitielle de l'os est constituée d'une matrice organique, sur laquelle se dépose du phosphate de calcium, conférant à l'os sa texture rigide de tissu de soutien. Cette liaison n'est pas, comme l'on a pu le croire pendant longtemps, immuable ; le degré de minéralisation de l'os dont la minéralisation est totalement achevée est, dans certains cas, soumis à des variations. Eanes et Posner (1965) ont montré que, chez les Mammifères, le minéral osseux était formé, non seulement de phosphate de calcium cristallisé sous forme d'apatite, mais aussi voisinant avec cette phase cristalline, d'une partie du phosphate de calcium amorphe ; un équilibre s'établissant entre les deux phases.

Nous avons, à l'aide d'une analyse par diffraction des rayons X (Lopez et al., 1970), en prenant comme exemple l'Anguille ♀ immature, montré que ces deux phases — phosphate de calcium cristallisé, phosphate de calcium amorphe — cœxistent aussi dans la substance minérale de l'os des Poissons. Il apparaît que l'os de l'Anguille présente une quantité de phosphate de calcium amorphe (0,83 g/cm³) beaucoup plus importante que l'os de Mammifère (Termine et Posner, 1967).

Dans certaines conditions (que nous étudierons en détail dans la partie histophysiologique de ce travail), par exemple, chez l'Anguille, lorsque le taux de calcium augmente dans le sang dans de fortes proportions, il y a accroissement du degré de minéralisation de la substance intercellulaire en tous ses points, sans modification de celle-ci. Il se produit propablement un transfert d'ions ou échange rapide isoionique entre le minéral osseux et le sang, sans qu'il y ait forcément égalité dans l'échange. Pour cela il faut supposer l'existence, dans le tissu osseux, d'un pool minéral labile qui est « l'os échangeable », il peut soit passer dans la circulation quand il y a baisse de la calcémie et inversement, un excès de calcium dans le sang est transféré rapidement dans la partie réactive de l'os. Nous pensons que ce pool calcique est constitué, en grande partie, par le phosphate de calcium amorphe plus facilement mobilisable.

b) *Déminéralisation de la substance interstitielle : l'halastasie.*

Il existe, dans l'os, une phase formée de phosphate de calcium non cristallisé qui serait, suivant les besoins de l'organisme, particulièrement disponible. S'il y a baisse de la calcémie celle-ci pourrait être, en partie, compensée par un échange d'ions rapide entre le sang et la substance minérale osseuse. Ces phénomènes sont de faible amplitude lorsque le bilan calcique est en équilibre, mais parfois, lorsque ce bilan est négatif, du fait de conditions physiologiques particulières ou de modifications expérimentales, la déminéralisation de la substance osseuse intercellulaire devient sensible et mesurable. Ce phénomène de déminéralisation diffuse, sans que la matrice organique soit lésée, rappelle l'ancienne conception de « l'halistérèse », mais ce terme a servi d'abord à désigner une interprétation de la lésion rachitique qui s'est révélée fausse, à savoir que les bordures ostéoïdes résulteraient d'une déminéralisation, alors qu'en fait elles correspondent à des régions qui n'ont pas été minéralisées (Kilian, 1857) ; selon Von Recklinghausen (1910), au cours de l'halistérèse, il y a dépolymérisation de la trame organique suivie d'une libération de sels minéraux.

Il ne s'agit pas non plus « d'ostéolyse » au sens de Leriche et Policard (1928) car pour ceux-ci ce phénomène impliquait une perte des éléments minéraux, suivie d'une transformation du tissu

Source : MNHN, Paris

osseux en tissu conjonctif. D'ailleurs comme nous l'avons vu, le terme « d'ostéolyse » sert actuellement *à désigner la résorption périlacunaire induite par les ostéocytes. Le terme de « calciolyse » a été récemment* proposé par Bonatirchuk (1966) mais malheureusement appliqué indistinctement à des phénomènes bien différents et nous ne pouvons le retenir. Ce départ des sels de calcium de l'os, sans que la trame organique soit détruite, a été appelé « halastasie » par Rutishauser et al. (1953) dans le cas de variations minérales secondaires à un traumatisme thermique. Halastasie, mot d'origine grecque, signifie instabilité des sels, c'est donc ce terme que nous retenons pour désigner le phénomène de déminéralisation diffuse dû à l'instabilité du phosphate de calcium amorphe que nous avons observé dans différents cas (Lopez, 1970 c et Lopez et al, 1970) et dont les causes, les manifestations et l'amplitude, seront exposées dans la partie expérimentale de ce travail.

c) *Conclusions*

La substance minérale qui se dépose sur la trame organique pour former un tissu hautement spécialisé, l'os, est formée de deux phases — une cristalline, une amorphe — toutes sortes d'interactions étant bien entendu possibles entre celles-ci. Dans la phase amorphe, l'ion calcium n'étant pas prisonnier d'un édifice cristallin, on peut supposer qu'il est plus facilement disponible, celle-ci constitue donc le pool calcique mobilisable.

Suivant les fluctuations de la balance calcique de l'organisme des Poissons, il peut y avoir accroissement du degré de minéralisation de la substance intercellulaire ou bien déminéralisation, sans que la structure intrinsèque de l'os soit modifiée ; c'est ce dernier phénomène lié à l'instabilité d'une partie des sels de calcium de l'os que nous appelons déminéralisation par halastasie. Dans l'un ou l'autre cas il ne s'agit pas d'un transfert d'ions selon un processus purement physicochimique ; si l'on considère l'os des Poissons comme un système à trois compartiments (voir schéma p. 68) ainsi que le fait Nichols (1963) pour l'os des Mammifères, les échanges d'ions calcium entre les liquides circulant et la substance osseuse calcifiée sont supposés être sous la dépendance de l'activité métabolique d'une limitante cellulaire. Les voies de 4ème ordre (système lacuno-canaliculaire) interposées entre les capillaires sanguins (voies de 3ème ordre) et les espaces interstitiels de la matrice osseuse (voies de 5ème ordre, Baud et Morgenthaler, 1963, 1964) offrent aux ions et aux molécules deux passages différents (Baud, 1962) : l'un est extracellulaire et est constitué par les espaces périostéocytaires, l'autre par les ostéocytes et leurs prolongements, il est intracellulaire. La migration des substances, à travers ce réseau, implique le franchissement de membranes cytoplasmiques et met donc en jeu les mécanismes qui régissent la perméabilité de ces membranes (Baud, 1962). Les ostéocytes contrôlent ainsi en partie le passage des ions et des molécules dans le tissu osseux, par leur système canaliculaire ils entrent en relation avec le tissu conjonctif juxta-osseux par l'intermédiaire des cellules bordantes (Baud, 1968 a, b) qui prennent place entre les capillaires sanguins et les ostéocytes. Ainsi ostéocytes et cellules bordantes constituent une limitante cellulaire dont le rôle sera étudié dans la seconde partie de ce mémoire.

RESUMÉ DE LA PREMIÈRE PARTIE

L'os cellulaire des Poissons présente beaucoup d'analogies avec celui des Mammifères, il apparaît sous les mêmes aspects d'os fibreux ou lamellaire, compact ou spongieux ; de plus, nous y trouvons les mêmes catégories cellulaires, ostéoblastes, ostéocytes, ostéoclastes.

Tout comme chez les Vertébrés supérieurs, les ostéoblastes assurent, chez les Poissons, l'élaboration du tissu osseux alors que les ostéoclastes contribuent à sa destruction. Les ostéocytes en apposant un peu d'os nouveau, sur leur lacune, provoquent un léger remodèlement interne, ils jouent aussi certainement, comme c'est le fait chez la Souris (Dupont, 1964), un rôle dans la minéralisation complémentaire de la substance osseuse. Ce phénomène est, dans tous les cas chez les Poissons, de faible amplitude, tandis que le processus inverse d'ostéolyse peut, au cours du cycle physiologique de l'animal ou après certaines expérimentations, prendre de grandes proportions. Les ostéocytes en tant qu'agents destructeurs du tissu osseux contribuent, tout autant que les ostéoclastes, à assurer la résorption osseuse

Source : MNHN, Paris

chez les Poissons. Ceux-ci nous apparaissent donc, à la suite des différentes observations faites, comme des cellules actives, ils participeraient d'ailleurs selon Moss (1963), chez les Téléostéens, au contrôle du métabolisme calcique, alors que l'os acellulaire n'y jouerait aucun rôle.

Le remaniement osseux est le résultat du jeu de l'apposition et de la résorption ; nous avons mis en évidence, chez l'Anguille, un pourcentage de surfaces en remaniement élevé, nous supposons que ces phénomènes n'ont pas exclusivement une signification morphologique. En outre à ces remaniements de surfaces et de lacunes, s'ajoutent les échanges calciques pouvant intervenir entre la matrice calcifiée et le milieu circulant ; l'halastasie qualifiant l'instabilité des sels, phénomène permettant la déminéralisation diffuse de la trame organique. La décalcification dans l'os cellulaire des Poissons, peut donc se faire de trois façons différentes, par ostéoclasie, ostéolyse et halastasie.

L'ensemble de ces observations faites, sur le mode de fonctionnement du tissu osseux cellulaire des Téléostéens, nous permet de supposer que celui-ci est capable, suivant les besoins de l'organisme, de stocker le calcium et de servir de pourvoyeur. Nous nous proposons dans la seconde partie de ce travail d'essayer de déterminer quels sont les principaux facteurs agissant sur ce tissu et dans quelle mesure, en réglant le métabolisme de ses différents constituants, ils affectent les phénomènes dynamiques de résorption, apposition, minéralisation.

Source : MNHN, Paris

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE L'OS CELLULAIRE VERTÉBRAL CHEZ PLUSIEURS ESPÈCES DE POISSONS TÉLÉOSTÉENS

CHAPITRE I

MISE EN ÉVIDENCE DE L'ACTION DE PLUSIEURS FACTEURS FAVORISANT LA RÉSORPTION OSTÉOCLASTIQUE.

Chez tous les Vertébrés, excepté le groupe des Poissons, la résorption ostéoclastique est, en grande partie, sous la dépendance des parathyroïdes par l'intermédiaire de la Parathormone (PTH), or ces glandes n'existent pas chez les Poissons (Fleischman, 1947). En dépit de cette lacune, l'os cellulaire des Poissons Téléostéens, aussi bien chez les animaux jeunes que chez les adultes, montre de très importantes surfaces atteintes par la résorption ostéoclastique. Celle-ci est le fait de l'action d'ostéoclastes typiques provenant de la différenciation de cellules ostéoprogénitrices ; cette différenciation cellulaire apparaît sous l'influence de certains stimuli probablement d'origine hormonale.

En nous appuyant sur quelques observations fortuites faites lors d'une première expérience de maturation expérimentale de l'Anguille ♀ et sur les connaissances actuellement acquises à propos de la régulation endocrine du catabolisme osseux chez les Mammifères, nous avons cherché quels sont les facteurs induisant l'apparition des ostéoclastes, dans l'os cellulaire, et étudié l'amplitude de leur action. Les recherches ont été orientées en tenant compte du fait que la PTH mammalienne est en général considérée comme étant sans effet sur l'os des Poissons (Rampone cité par Hoar, 1957 ; Fleming et Meier, 1961, a b, ; Yamada, 1961 ; Moss, 1963 ; Clark et Fleming, 1963).

I — Effet de la maturation sexuelle

A — *Maturation expérimentale chez l'Anguille*

1°) *Introduction*

L'action exercée par les gonades, sur le métabolisme calcique des Poissons, a été mise en évidence dès 1928 par Hess et al., puis en 1937 par Vernon et Van Someren ; ils signalent, en ce qui concerne le Saumon, que la calcémie est plus élevée chez les femelles que chez les mâles au moment de la reproduction. Fontaine et al. (1950) chez le Saumon de montée, Salmo salar, Oguri et Takada (1966) chez le Cyprin ♀ mature, confirment ce fait. De plus, chez de nombreuses espèces de Téléostéens l'injection d'œstrogènes provoque une augmentation de la calcémie (Bailey, 1957 ; Fleming et Meier, 1961 a ; Clark et Fleming 1963 ; Fleming, et al., 1964; Chan et Chester-Jones, 1968; Woodhead, 1969). Lors de la maturation expérimentale de l'Anguille femelle, Fontaine et al. (1964) observent, une augmentation considérable de la calcémie et de la phosphatémie s'accompagnant de déformations du squelette ; Tchernavin (1938-1940) avait déjà remarqué que, chez le Saumon frayant, les remanie-

Source : MNHN, Paris

ments affectant la mâchoire étaient concomitants d'un accroissement de la résorption osseuse, dans d'autres parties du squelette. Ces différentes observations et résultats nous ont déterminée, à étudier l'os vertébral des Anguilles mâles expérimentalement.

2°) *Protocole expérimental*

Des Anguilles ♀ très argentées d'un poids moyen de 500 g sont conduites à maturation par injections répétées d'extrait hypophysaire de Carpe*. Maintenues en eau de mer pendant toute la durée de l'expérience, elles subissent suivant un protocole déjà décrit (FONTAINE et al., 1964) le traitement suivant :

a) 8 Anguilles reçoivent des injections régulièrement espacées de 0,5 mg puis de 1 mg/100 g de poids, d'extrait d'hypophyse de Carpe, ceci pendant environ trois mois (jusqu'à l'obtention des premiers signes de complète maturation : ventre gonflé et très argenté, tête effilée, gonflement du pore génital). La dose totale d'hypophyse de Carpe injectée à chaque animal est de 129,20 mg. Leur RGS au moment du sacrifice est compris entre 25 et 40. 6 Anguilles de ce lot sont sacrifiées le jour même ou dans les deux ou trois jours qui suivent l'ouverture du pore génital. Leurs calcémies varient entre 200 et 1424 mg/l. Les deux autres Anguilles sont sacrifiées l'une 42 jours après la ponte (calcémie = 2000 mg/l), l'autre deux mois après (calcémie = 1000 mg/l).

b) 6 Anguilles ♀ argentées témoins sont maintenues en eau de mer pendant toute la durée de l'expérience et présentent des calcémies ne dépassant pas 120 mg/l.

Dans le but de prélèvements, en cours de maturation, 4 Anguilles ♀ très argentées, sont traitées d'une façon progressive; elles reçoivent des injections hebdomadaires de 1 mg/100 g de poids, d'extrait d'hypophyse de Carpe. L'expérience s'étend sur 5 mois, l'état des animaux au moment du sacrifice est résumé dans le tableau III.

Dans le même temps 12 pimpeneaux (jeunes Anguilles ♂) sont maintenus en eau douce et 6 d'entre eux conduits à maturation (FONTAINE, 1936). Ils reçoivent deux injections hebdomadaires de 100 mg de prolans urinaires (HINGLAIS) dans 1 cm³ de sérum physiologique à $3‰$, ceci durant 1 mois. Puis ils stabulent au laboratoire en attendant leur maturation complète ; aux premiers signes d'émission de laitance ils sont sacrifiés.

Pour l'ensemble de ces expériences, la température de l'eau était de 17 °à 18°C.

Les mesures des surfaces en résorption sont faites sur des vertèbres caudales, prélevées 2 cm en arrière de l'anus, et sur des vertèbres dorsales toutes prélevées au niveau du foie. Aucune différence notable, pour le même matériel, n'a été observée entre les deux niveaux.

Seuls les ostéoclastes plurinucléés sont comptés dans la détermination de l'index ostéoclastique, afin d'éviter au maximum les causes d'erreur d'identification.

TABLEAU III

Animaux	Nombre d'injections d'hypophyse de Carpe	RGS	Calcémie (mg/l)
Anguille A	14	10	115
Anguille B	17	21	220
Anguille C	17	29	460
Anguille D	20	ponte spontanée	500

3°) *Modifications observées chez la femelle mature*

a) *Au niveau du sang*

Au cours de la maturation expérimentale de l'Anguille ♀, il y a augmentation de la phosphatémie et de la calcémie (FONTAINE et al., 1964), cette hypercalcémie est progressive (tableau III), elle intervient dès les premiers signes d'évolution sexuelle (ceux-ci étant plus ou moins précoces selon

*L'extrait hypophysaire de Carpe nous a été aimablement fourni par les Stoller Fisheries. Spirit Lake IOWA-USA.

Source : MNHN, Paris

l'état sexuel initial de l'Anguille)puis elle croît surtout deux ou trois semaines avant l'émission des œufs (Fontaine et coll., résultats inédits). En général lorsqu'il y a ponte spontanée, les calcémies n'atteignent jamais 1000 mg/litre, les valeurs les plus élevées ont été trouvées : soit chez des animaux n'ayant pas émis leurs œufs, soit chez des animaux sacrifiés après la ponte ; ceci nous permet de penser que cette élévation considérable du calcium dans le sang est due à la résorption des œufs riches en calcium (Fontaine et coll., résultats inédits) lysés dans la cavité générale. Dernièrement, des mesures du calcium libre (ultrafiltrable) et du calcium lié aux protéines (non ultrafiltrable) ont été faites sur le sang d'Anguilles matures (Fontaine et Chartier Baraduc, 1970, résultats inédits), celles-ci ont montré que seul le calcium lié augmente dans de fortes proportions.

Chez l'Anguille ♀, mûrie expérimentalement, il se produit donc un profond déséquilibre du bilan calcique. Dès 1964, au cours de la première expérience de maturation, nous avions remarqué que ces animaux émettaient par voie intestinale des concrétions calcaires beaucoup plus abondantes que ne le font les Anguilles argentées immatures ; lors du sacrifice le squelette présentait une résistance moindre aux ciseaux et nous émettions déjà l'hypothèse d'une décalcification osseuse.

b) *Au niveau du tissu osseux vertébral*

L'observation au faible grossissement de coupes transversales des vertèbres d'Anguilles ♀ matures (sacrifiées soit au moment de la ponte ou après) et immatures, ainsi que celles des microradiographies correspondantes, nous a immédiatement permis de voir que la résorption ostéoclastique est très importante chez les premières (fig. 51). Les arcs vertébraux et le corps vertébral présentent des surfaces profondément entaillées (fig. 51-52) ; le corps vertébral très peu souvent atteint par la résorption ostéoclastique, chez les Anguilles en général (Lopez, 1970 a) (fig. 49) l'est ici dans de fortes proportions. Le nombre des ostéoclastes augmente d'une façon considérable (fig. 53-54) ; alors qu'en moyenne, sur une coupe transversale de vertèbre d'animal témoin, nous trouvons deux ostéoclastes typiques, nous en dénombrons quinze chez les animaux traités.

Le pourcentage des surfaces présentant des signes caractéristiques du phénomène de résorption (bords crénelés ou entaillés)est trois fois plus important (tableau IV) dans l'os des Anguilles ♀ matures que chez celui des témoins. L'accroissement important du nombre des ostéoclastes se traduit donc par une forte augmentation des surfaces en résorption; celles-ci sont d'ailleurs, dans ce cas, en grande partie entièrement bordées de cellules ayant un aspect ostéoclastique (fig. 53-54) (Lopez et Martelly-Bagot, 1971). Par contre, le pourcentage des surfaces bordées d'ostéoblastes actifs ne varie pas, la résorption ne se fait pas au détriment de l'apposition mais des surfaces osseuses au repos (tableau IV).

TABLEAU IV

Anguilles ♀	Surfaces de résorption %	Surfaces bordées d'ostéoblastes %
Témoins n = 6	15,5 ± 1,2 (a)	7,52 ± 0,78
	P < 0,001	P > 5 %
Traitées n = 8	49,5 ± 3,2	7,14 ± 0,74

a : erreur standard n : nombre d'animaux

Les surfaces de résorption et bordées d'ostéoblastes sont exprimées en % de la surface totale.

Source : MNHN, Paris

Les ostéoclastes, dans l'os des Anguilles matures, se présentent sous deux formes différentes, ils peuvent être mononucléés (fig. 55) et alors nous les appelons préostéoclastes (1ère partie, chapitre II, p. 21), ou bien plurinucléés. Les cellules ostéoclastiques, mononucléées, se distinguent nettement des cellules environnantes (fig. 54), elles ont un cytoplasme renflé et bien délimité, bourré de très fines granulations colorées par la fuchsine basique (sur coupes non décalcifiées) ; leur noyau est sphérique, avec peu de chromatine répartie en mottes et un ou plusieurs gros nucléoles, ce noyau est très différent de celui des cellules fortement stimulées qui voisinent, le long des surfaces de résorption, avec les cellules bordantes (fig. 55). De plus, ces cellules mononucléées bordent souvent des surfaces présentant toutes les caractéristiques de la résorption (fig. 54-58-59). Les ostéoclastes plurinucléés sont de très volumineuses cellules (fig. 56) dont les noyaux ont le même aspect que ceux des préostéoclastes (fig. 54-55), nous pensons qu'ils proviennent de la fusion de plusieurs d'entre-eux (fig. 59). Les résultats ne diffèrent pas, que les Anguilles soient sacrifiées au moment de la ponte ou après celle-ci.

TABLEAU IV'

Animaux	RGS	Calcémie mg/l	Surfaces en résorption %	IO
A	10	115	14,3	0,08
B	21	220	29,7	0,20
C	29	460	33,3	0,46
D	ponte spontanée	500	30	0,48

Les surfaces en résorption sont exprimées en % de la surface totale.
IO = Index ostéoclastique.

A quel moment du traitement les premières manifestations importantes de la résorption ostéoclastique se manifestent-elles ?

Chez l'Anguille A dont le RGS est peu élevé le pourcentage des surfaces de résorption est encore comparable à celui des Anguilles témoins séjournant en eau de mer (tableau IV'). L'index ostéoclastique est faible, l'observation des coupes permet cependant de mettre en évidence des cellules très stimulées présentant déjà les caractéristiques des préostéoclastes mais ne bordant pas des surfaces en résorption, (fig. 57). La résorption ostéoclastique augmente nettement chez l'Anguille B dont le RGS est déjà important ; à côté d'ostéoclastes plurinucléés nombreux nous trouvons un grand nombre de préostéoclastes (fig. 58), la plupart d'entre-eux ayant déjà une fonction résorbante, ce qui explique le fait que l'index ostéoclastique (ne portant que sur les ostéoclastes plurinucléés) n'augmente pas en proportion des surfaces résorbées. Puis chez les Anguilles C (fig. 59) et D (fig. 60), la résorption atteint des valeurs déjà observées chez des Anguilles sacrifiées à complète maturation ; l'intensité de la résorption est comparable, dans les deux cas, puisque les surfaces résorbées et les index ostéoclastiques sont sensiblement les mêmes. Les préostéoclastes sont plus rares.

4°) *Résultats négatifs chez l'Anguille mâle mature*

Une étude de la calcémie des pimpeneaux ♂ matures (Fontaine et Martelly-Bagot, résultats inédits) a montré qu'il n'existe aucune différence ($P > 5\ \%$ après test « t ») entre la calcémie des animaux

Source : MNHN, Paris

témoins (114 mg/l ± 5,1) et celle des animaux fluents (109 mg/l ± 5,9). Pourtant nous remarquons que ces derniers émettent dans les bacs des concrétions blanches calcaires. L'étude de l'os vertébral, effectuée de la même manière que celle des Anguilles ♀mûres, ne nous a permis, en aucun cas, de mettre en évidence des phénomènes de résorption ostéoclastique comparables à ceux observés chez l'Anguille ♀ mature.

5°) *Résumé et Discussion*

L'apparition des ostéoclastes et de la résorption qu'ils provoquent n'est sensible, chez l'Anguille ♀, que lorsque les ovaires sont bien développés et à ce moment il y a une forte élévation de la calcémie, en relation certaine avec l'accroissement de la résorption ostéoclastique. Résorption et calcémie continuent ensuite à augmenter corrélativement jusqu'à la ponte. Chez les ♂ la maturation ne provoque aucune variation notable du métabolisme calcique ; Woodhead (1969) signale que des changements saisonniers faibles de la calcémie de la Morue ♂ ont déjà été observés, mais d'après Gottfried et al (1962), ceux-ci ne peuvent être dus aux œstrogènes, car seules de faibles traces d'un stéroïde, ressemblant à de l'œstradiol, sont trouvées dans les gonades. Cedard et Nomura (1961) travaillant sur les Apodes et la Carpe montrent que les concentrations des œstrogènes sont dans le sang habituellement plus faibles chez les mâles que chez les femelles. Les Poissons mâles peuvent répondre, au point de vue élévation de la calcémie, comme les femelles, à l'action d'œstrogènes exogènes (Woodhead, 1969) mais leur taux d'œstrogènes endogènes est sans doute trop faible pour avoir un effet lors de la maturation, même lorsque celle-ci est provoquée expérimentalement.

B — *Maturation naturelle chez le Congre femelle*

1°) *Introduction*

Il apparaît, dans l'os de l'Anguille ♀ mûrie artificiellement, en relation avec une forte hypercalcémie, une importante résorption ostéoclastique. La maturation de cet animal survenant à la suite d'injections répétées d'extrait total d'hypophyse de Carpe, nous pouvions nous demander si l'amplitude de l'ostéoclasie observée n'était pas le fait d'un déséquilibre hormonal, provoqué par ce traitement de choc, plutôt qu'un phénomène causé, en grande partie tout au moins, par l'état sexuel de l'Anguille. Nous avons pu étudier, au cours de la maturation naturelle de la femelle, l'os d'un Poisson très voisin, le Congre provenant du Golfe de Gascogne.

2°) *Le « Congre caoutchouc » ou Congre mature femelle*

Les Congres migrent au printemps pour aller frayer vers les profondeurs, ils quittent les rochers côtiers, « ils font une catadromie relative » (Mousset, 1957) pour terminer leur cycle sexuel et pondre vers le Gouf de Capbreton. Des Congres ♀, très évolués sexuellement, peuvent être pêchés puisque Perard (1929) remarque de tels animaux aux Halles de Paris et les décrit ; ils tiennent d'ailleurs des mandataires leur appelation de « Congre caoutchouc » à cause de la mauvaise qualité de leur chair. Au Musée de la mer à Biarritz* des Congres sont maintenus en permanence dans un aquarium d'eau de mer, ils s'y développent normalement jusqu'à l'âge de quatre ans ; alors, entre Mars et Juin, ils commencent à évoluer sexuellement (Mousset, 1957). Le comportement des femelles se modifie, elles refusent toute nourriture, leur ventre se gonfle de gonades, leur état physiologique se détériore ; maintenues ainsi en captivité, elles s'acheminent vers la mort sans vraiment atteindre la complète maturité sexuelle. Ce sont en général de gros animaux, dont le poids peut atteindre 20 kg et dont la cavité générale est remplie d'œufs. Le RGS des Congres étudiés et dont les échantillons osseux sont prélevés sur place, est compris entre 12 et 20 ; le sacrifice et les prélèvements sont faits avant que la dégradation physiologique n'apparaisse. Des vertèbres sont aussi prélevées sur des animaux femelles immatures dont le

*Chaque année des Congres sont mis à la disposition de Monsieur le Professeur Fontaine par le Centre d'Études et de Recherches scientifiques de Biarritz (C.E.R.S.).

Source : MNHN, Paris

RGS est < 5. Ainsi que nous l'avions remarqué lors du sacrifice des Anguilles ♀ matures, le squelette des femelles évoluées sexuellement est très mou, il présente les signes d'une décalcification évidente.

3°) *Modifications observées*

a) *au niveau du sang*

La calcémie des Congres immatures est de 112,6 / mg/l $\pm$ 1,6 alors que celle des femelles matures est de 161,5 mg/l $\pm$ 18,2 (tableau V). Celle-ci croît donc avec la maturation (Fontaine et coll., résultats inédits) mais elle n'atteint jamais les valeurs considérables enregistrées chez l'Anguille ♀ mûrie expérimentalement. Signalons à ce propos que le RGS de ces animaux n'est pas aussi important que celui des Anguilles. Chez deux Congres ♀ dont la ponte a été provoquée en aquarium par Mousset (1957), les RGS sont de 24 et 25 alors qu'ils atteignent en général 40 chez l'Anguille ♀ au même stade. De plus, les Congres ne reçoivent pas d'hypophyse de Carpe ce qui peut expliquer la différence observée entre les taux des hypercalcémies.

b) *au niveau osseux*

Les premiers prélèvements de colonne vertébrale furent traités selon les méthodes classiques d'étude de l'os. L'observation des coupes décalcifiées nous permit de voir une raréfaction du tissu osseux, les ramifications du corps vertébral et les apophyses neurales et hémales étaient très réduites ; leurs surfaces irrégulières étaient entaillées de cryptes plus ou moins profondes, mais aucune coloration ne mettait en évidence les cellules responsables de cette résorption.

Sur coupes d'os non décalcifié, coloré en masse à la fuchsine basique avant l'inclusion, nous pouvons montrer de très importantes surfaces de résorption crénelées ou creusées de lacunes dans lesquelles séjournent des ostéoclastes typiques (fig. 61). Les cellules ostéoclastiques observées sont en tous points semblables à celles que nous avons décrites dans l'os de l'Anguille ♀ mature (fig. 61-62). Ces cellules mononucléées ou plus souvent plurinucléées, prennent dans certains cas un véritable aspect plasmodial (fig. 63) et bordent quasi entièrement les surfaces présentant les caractéristiques de la résorption. Toutes les cryptes de résorption sont envahies par un grand nombre de capillaires sanguins (fig. 61), cette hyperhémie est importante et remarquable car nous n'avons rien constaté de tel dans l'os de l'Anguille ♀ mature. Les bordures osseuses en cours de destruction se colorent fortement (fig. 61-63), ce

TABLEAU V

Animaux	Calcémie (mg/l)	Surfaces de résorption en % de la surface totale	Nbre moyen d'ostéoclastes par coupe transversale de vertèbre
Congres immatures RGS < 5 n = 4	112,6 $\pm$ 1,6 [a]	19,23 $\pm$ 0,55	6
	$P < 0,02$	$P < 0,001$	
Congres ♀ matures $12 <$ RGS < 20 n = 6	161,5 $\pm$ 18,2	32,50 $\pm$ 1,36	18

a = erreur standard
n = nombre d'animaux

Source : MNHN, Paris

front de décalcification est souvent large ; la coloration de l'os indique que la basophilie de celui-ci est augmentée par suite, sans doute, de modifications subies par la matrice osseuse en voie de dissolution.

Le pourcentage de surfaces en résorption et le nombre moyen d'ostéoclastes rencontrés sont plus importants chez les Congres ♀ en cours de maturation que chez les Congres immatures (tableau V). Il existe, comme chez l'Anguille ♀ mûre, une relation étroite entre le nombre d'ostéoclastes et les surfaces résorbées, celles-ci sont cependant, en proportion, moins importantes chez les Congres que chez les premières (tableau IV). Nous avons observé, chez les Congres ♀, de nombreux ostéoclastes présentant un aspect particulier (fig. 62-64) qui, en dépit de la particularité de cette cellule, correspond, nous le pensons, à un état d'inactivité. Leur cytoplasme est rempli de grains plus volumineux que ceux des ostéoclastes voisins, il semble en état de désagrégation ; les nombreux noyaux sont ovoïdes et très basophiles, on n'y distingue plus, ni chromatine, ni nucléole, mais pourtant ils ne sont pas réellement pycnotiques, ils sont comparables aux noyaux plats des ostéoblastes inactifs (fig. 62). En général le sort des ostéoclastes est mal connu, il est admis que leur dégénérescence ne se voit que rarement (dans Vaes, 1967). Pourtant la disparition progressive de leurs noyaux marqués par la thymidine ^3H a été observée (Young, 1962 b) et plusieurs auteurs (dans Vaes, 1967) supposent qu'ils retournent, avec une partie du cytoplasme, au fonds commun des cellules souche ; nous pensons en effet qu'il peut en être ainsi dans l'os cellulaire du Congre.

4°) *Résumé*

La calcémie, chez le Congre ♀ s'élève au cours de la maturation génitale, phénomène qui, nous l'avons déjà souligné, est propre à bon nombre de Poissons. Cette hypercalcémie est légère, surtout si on la compare à celle enregistrée chez l'Anguille ♀ mûrie expérimentalement.

L'os vertébral est le siège d'une forte résorption osseuse avec apparition de nombreux ostéoclastes dont certains pourtant sont en voie de dégénérescence. Cette résorption ostéoclastique contribue certainement, pour une large part, à l'élévation du taux de calcium dans le sang.

C — *Discussion*

La résorption ostéoclastique prend, dans l'os de l'Anguille ♀ mûrie artificiellement, et dans celui du Congre ♀ subissant une maturation sexuelle naturelle, des proportions presques pathologiques. Chez les Mammifères, l'ostéoclasie est provoquée tout au moins, en partie, par l'hormone parathyroïdienne (PTH) qui a une action directe sur l'os (Barnicot, 1945 ; Chang, 1951 ; Gaillard, 1955), il en est de même chez les Oiseaux (Taylor et Belanger, 1969). Or, ainsi que nous l'avons déjà signalé, il n'y a pas de parathyroïdes chez les Poissons ; de plus, sachant que la sécrétion de PTH est déclenchée par une hypocalcémie, leur activité serait sans doute stoppée par l'hypercalcémie enregistrée, tout au moins en ce qui concerne l'Anguille. Toutefois, chez l'Anguille ♀ mature et le Congre ♀ évolué sexuellement, une action sur l'os de type parathyroïdien apparaît ; dans le premier cas à la suite d'injections répétées d'extrait d'hypophyse de Carpe, dans le second sous l'influence de facteurs purement endogènes. On ne peut dire s'il s'agit d'une stimulation due à l'influence directe sur l'os d'une hormone hypophysaire, ou bien s'il y a relais par l'intermédiaire d'autres glandes endocrines susceptibles d'être activées, en l'occurence des glandes génitales ou de l'interrénal. Une étude histologique systématique de la thyroïde nous permet de dire que, chez les animaux étudiés, celle-ci est complètement au repos, son intervention est donc écartée.

Une hypothèse impliquant l'action des hormones sexuelles dans la résorption osseuse, au cours de la reproduction du Saumon, a déjà été émise par Fontaine et al. (1950). De nombreux travaux ont aussi montré que, par exemple chez les Oiseaux ♀, lors de la période de ponte, la mobilisation des sels phosphocalciques se traduit par des remaniements osseux importants (Kyes et Potter, 1934 ; Bloom et al., 1941 ; Urist et al., 1960). Benoit et al. (1941) en stimulant artificiellement l'activité ovarienne de la Cane domestique provoquent une hypercalcémie s'accompagnant aussi de modifications osseuses. Quelle est chez les Oiseaux la régulation hormonale de ces phénomènes ? Les derniers travaux entrepris sur ce sujet (Simkiss, 1961-1967 ; Taylor et Stringer, 1965 ; Urist, 1967 ; Taylor et Belanger, 1969) soulignent l'importance du rôle joué par la parathormone mais aussi suggèrent que les deux

Source : MNHN, Paris

types d'hormones androgènes et œstrogènes sont nécessaires. Dans les ovaires de Congre, Lupo et Chieffi (1963) mettent en évidence plusieurs œstrogènes ; Cedard et Nomura (1964) constatent que chez le Congre ♀ de l'Atlantique l'œstrone et l'œstradiol semblent augmenter dans le sang en même temps que le RGS s'élève. Les résultats négatifs obtenus chez l'Anguille ♂ mature, peuvent peut-être s'expliquer ainsi que nous l'avons déjà mentionné par la faible quantité d'œstrogènes sécrétés chez les Poissons ♂ par rapport aux androgènes (Cedard et Nomura, 1964 ; Gottfreid et al., 1962). Un rôle joué par les hormones issues des glandes sexuelles femelles, peut donc être envisagé afin d'expliquer, en partie, les modifications osseuses observées au cours de la maturation de l'Anguille ♀ et du Congre ♀ d'autant plus que chez ces derniers l'effet d'aucune hormone hypophysaire exogène ne peut être suspecté. Nous tenons à noter que, en dépit de l'administration de poudre hypophysaire riche en gonadotrophines, les cellules gonadotropes de l'hypophyse de l'Anguille ♀ mature sont très stimulées (Olivereau et Fontaine, 1966). Il n'apparaît cependant pas improbable que d'autres facteurs puissent entrer en jeu.

Chez les Poissons Téléostéens, l'interrénal est considéré comme l'homologue du cortex surrénal; stimulé par l'ACTH, il sécrète des corticostéroïdes identiques à ceux trouvés chez les Vertébrés supérieurs : hydrocortisone, cortisone, corticostérone (Leloup-Hatey, 1964 a). L'extrait d'hypophyse de Carpe injecté contient de l'ACTH, il a été constaté que l'activité des cellules corticotropes de l'hypophyse des Anguilles ♀ mûres était freinée (Olivereau, 1967) ; mais une étude histologique de l'interrénal de ces mêmes animaux indique une nette activité de cette glande (Olivereau, communication personnelle, résultats inédits). De plus, Robertson et Wexler (1959) ont montré, chez le Saumon du Pacifique (Oncorhynchus) que la reproduction s'accompagnait d'une hypercorticostéroïdémie intense, il peut donc en être de même chez le Congre ♀ mature. Certains travaux nous permettent d'émettre l'hypothèse d'une implication probable des corticostéroïdes dans les résultats obtenus sur l'os de ces deux Téléostéens matures. D'une part, il a été montré (Chester Jones et al., 1965 ; Chan et al., 1967) que chez l'Anguille l'interrénalectomie provoquait des variations de la calcémie ; il y a chute de celle-ci en eau douce, élévation en eau de mer. D'autre part, l'injection d'ACTH influence le métabolisme calcique chez certains Téléostéens (Fleming et al., 1964 ; Ball et Ensor, 1967) ; Chan (1969) signale après injection d'ACTH ou de cortisol, une mobilisation du calcium avec dépôt de celui-ci dans certains tissus mous comme le muscle, mais l'action au niveau de l'os n'a pas été étudiée dans ce cas. Compte tenu de ce que nous savons de l'effet des corticoïdes sur l'os des Mammifères (Baud et Dupont, 1964, revue) l'ostéoclasie observée dans l'os des deux Poissons matures, peut aussi, en partie tout au moins, être supposée d'origine cortisonique surtout chez l'Anguille femelle mûrie expérimentalement, celle-ci recevant une quantité non négligeable d'ACTH.

II — Effet d'un oestrogène chez le cyprin

1°) *Introduction*

Nous avons précédemment émis l'hypothèse d'une action probable des œstrogènes, dans l'induction de la résorption osseuse ostéoclastique provoquée par la maturation, artificielle chez l'Anguille, naturelle chez le Congre. Pourtant un doute subsiste si l'injection d'œstrogènes, à des Poissons, provoque en général une hypercalcémie (Bailey, 1957; Fleming et Meier, 1961 a; Clark et Fleming, 1963 ; Chan et Chester Jones, 1968), l'injection d'œstradiol seul, chez Fundulus kansae (Clark et Fleming, 1963) ne semble pas favoriser la résorption osseuse. Nous allons voir ce qu'il en est chez le Cyprin traité à l'œstrone.

2°) *Protocole expérimental*

Un lot de 12 Cyprins adultes dont le poids est compris entre 50 et 80 g (longueur 16 à 20 cm) est maintenu en eau douce (t° 22° ± 1). 6 d'entre eux reçoivent une injection intrapéritonéale de 0,1 mg d'œstrone en suspension dans 0,1 ml d'huile d'olive. Le sacrifice a lieu 8 jours après l'injection*.

*Cette expérience a été réalisée par F. Mazeaud, Attaché de recherche au C.N.R.S. — Laboratoire de Physiologie de l'Institut Océanographique, rue St-Jacques, Paris 5ème.

Source : MNHN, Paris

Les vertèbres caudales de deux Cyprins témoins et deux Cyprins traités sont prélevées en vue d'une étude histologique.

3°) *Résultats*

Les calcémies des deux témoins étudiés sont de 79,5 mg/l et de 84,0 mg/l, alors que celles des animaux injectés d'œstrone sont de 899,5 mg/l et 840,0 mg/l. L'étude histologique de l'os n'a pu, malheureusement, porter que sur quatre animaux, mais nous devons signaler que dans l'ensemble de l'expérience, les calcémies moyennes dans les deux groupes respectifs (6 animaux) étaient alors de 79,0 $\pm$ 1,6 et 799,2 $\pm$ 46,5 ($P < 0{,}001$ après test t ; Mazeaud, publication en cours 1972). Ces résultats nous permettent de constater que l'hypercalcémie, induite par l'œstrone, n'est pas occasionnelle ainsi que l'objection pourrait en être faite dans le cas d'une expérience ne portant que sur deux animaux. L'observation de coupes non décalcifiées d'os vertébral nous montre chez les animaux traités le long des surfaces des arcs neuraux et hémaux, de profondes brèches de résorption (fig. 65-66-67), alors que, chez les Témoins, les bordures osseuses sont, pour la plupart, lisses. Chez ces derniers les valeurs des surfaces de résorption (exprimées en % de la surface totale) sont de 5,2 % et 8 % pour 30 % et 22 % chez les Cyprins injectés d'œstrone. Chez les témoins, nous n'observons que très peu d'ostéoclastes (mis en évidence surtout dans des régions persistantes d'ossification endochondrale) ; par contre, chez les animaux traités, chaque brèche creusée dans l'os est occupée par un ostéoclaste typique plurinucléé (fig. 68) tout à fait similaire à ceux décrits dans l'os des Anguilles ♀ et des Congres ♀ matures. Cette résorption affecte surtout les surfaces osseuses nouvellement apposées, elles sont particulièrement faiblement minéralisées (fig. 65-66), nous discuterons de ce phénomène lors de l'étude de la régulation du processus d'apposition.

4°) *Discussion*

Chez le Cyprin l'injection d'œstrone provoque l'apparition d'un grand nombre d'ostéoclastes qui se traduit par un accroissement notable de la résorption ostéoclastique ; celle-ci est de la même importance chez les deux animaux traités étudiés, cette observation nous permet, dans une certaine mesure, d'extrapoler ces résultats à tous les animaux hypercalcémiques de l'expérience, et de supposer que cette résorption osseuse est en partie responsable de l'hypercalcémie enregistrée. La résorption ostéoclastique, bien qu'importante par rapport à celle des témoins, est faible en regard de celle mesurée dans l'os des Anguilles ♀ et des Congres ♀ mûres (tableau IV et V), elle ne peut donc, seule, être à l'origine de l'augmentation considérable du taux de calcium dans le sang. Les autres processus de déminéralisation de l'os n'étant pas sensiblement modifiés (ostéolyse, déminéralisation par halastasie) il est certain que des phénomènes extra-osseux interviennent. Il faut compter avec le fait que certains Téléostéens ont la possibilité d'absorber le calcium à partir du milieu environnant (Lovelace et Podoliak, 1952 ; Boroughs et al., 1957 ; Rosenthal, 1963 ; Moss, 1963) ; nous rejoignons là le point de vue de Fleming et al. (1964) mettant en jeu, afin d'expliquer l'hypercalcémie observée chez Fundulus hétéroclitus après injection d'œstradiol, l'importance de la concentration du calcium dans le milieu extérieur — donc, de ce fait, des échanges — l'absorption de calcium exogène étant d'après lui accentuée sous l'effet de l'œstrogène injecté. Fleming et al (1964) ne peuvent cependant expliquer l'hypercalcémie observée, après le même traitement, chez des Poissons maintenus en eau dépourvue de calcium ; cette élévation du calcium sanguin ne peut provenir que du calcium endogène et à notre avis, en partie, du calcium du tissu osseux libéré par résorption ostéoclastique. Comment expliquer les résultats négatifs obtenus par Clark et Fleming (1963) sur l'os de Fundulus traité à l'œstradiol ? Fundulus a un os acellulaire alors que le Cyprin a un os cellulaire, nous ne pensons pas qu'il s'agisse, dans ce cas, d'une différence fondamentale, il n'existe aucune raison, à notre avis, pour que des ostéoclastes ne puissent se former dans l'os acellulaire, (1ère Partie, chapitre II, 6°, p. 22) surtout que des surfaces de résorption y sont observées. La divergence des résultats provient plus vraisemblablement du mode d'étude de l'os : la résorption ostéoclastique, chez les Poissons, avec mise en évidence d'ostéoclastes, est très difficilement observable sur coupes décalcifiées. Les modifications obtenues dans l'os du Cyprin, après injection d'œstrone, concordent parfaitement avec certains effets observés, chez un Mammifère (Souris),

Source : MNHN, Paris

après injections d'œstrogène ; l'administration d'œstradiol peut provoquer, chez cet animal une ostéoporose prononcée (Silberberg et Silberberg, 1969).

Les observations faites, à la suite de cette expérience, renforcent l'hypothèse que nous avons émise à propos de la maturation des Anguilles et des Congres, sur le rôle joué par les œstrogènes dans l'induction de la résorption ostéoclastique chez les Poissons, tout au moins chez les Téléostéens à os cellulaire.

III — Effet de la thyroxine (T_4) chez la truite (Salmo gairdnerii Rich) maintenue dans certaines conditions expérimentales

1°) *Introduction*

Les effets de l'hormone thyroïdienne sur la résorption du tissu osseux ont été démontrés chez les Mammifères in vivo (Engfeldt et Hjertquist, 1954 ; Adams et Jowsey, 1967 ; Burkhart et Jowsey, 1967) et in vitro (Vaes et Nichols, 1962). Ces études, pour ne citer que les principales, ont montré qu'un excès de thyroxine stimule, en général, directement la résorption ostéoclastique entraînant une hypercalcémie.

Chez les Poissons, l'action de cette hormone sur l'os n'a été que peu étudiée, Buser (1950) a observé qu'un antithyroïdien, la prégnéninolone, peut avoir un rôle inhibiteur sur la régénération osseuse des nageoires du Poisson Chat (Ictalurus melas), mais l'effet sur la résorption n'a pas jusqu'ici été démontré.

2°) *Protocole expérimental**

Des Truites arc-en-ciel (20 g < poids < 30 g) sont réparties en deux lots de 5 animaux. Le lot I est maintenu en eau du robinet, non courante (Ca = 80 mg/l), le lot II en eau privée de calcium additionnée de T_4 à la concentration de 2 mg/l (température de l'eau, 12 à 13°C). Ce protocole a été choisi d'après certains résultats obtenus par Mme Chartier-Baraduc (résultats inédits) : la déminéralisation osseuse, chez la Truite, avec abaissement de la calcémie est maximale lorsque l'animal est maintenu à jeun dans une eau privée de calcium additionnée de T_4 ; l'action seule de l'eau déminéralisée est comparativement négligeable, elle favorise seulement l'action de la T_4. Lors de ce traitement (eau privée de calcium + T_4) la mortalité des animaux est très forte, 47 %. (L'eau sans calcium est de l'eau déminéralisée enrichie en Na^+ et K^+ dans les proportions correspondant au taux de ces ions dans l'eau du robinet).

3°) *Résultats*

Lors de l'étude générale de la résorption ostéoclastique dans l'os cellulaire des Poissons (1ère partie, chapitre III, 3°), nous avons assimilé à ce processus un phénomène similaire, principalement observé chez la jeune Truite : certaines surfaces osseuses sont érodées par des cellules ayant à quelques détails près une morphologie d'ostéoblaste mais une fonction d'ostéoclaste (fig. 71-72). Nous sommes là en accord avec une opinion ancienne, émise par Leriche et Policard (1918, 1926), selon laquelle les ostéoblastes seraient des agents de réaction de l'os. D'après nos observations, certains de ces ostéoblastes ont tendance à fusionner, ces cellules seraient donc simplement, à notre avis, l'équivalent des préostéoclastes décrits dans l'os de l'Anguille et du Congre ♀ mature (fig. 44).

Chez les Témoins, la résorption est peu importante, elle est visible le long des arcs neuraux (fig. 69) nous y distinguons de grandes brèches où coexistent quelquefois ostéoblastes destructeurs et quelques rares ostéoclastes typiques, certaines de ces lacunes sont d'ailleurs en cours de comblement par une apposition récente. Les trabécules osseux partant, chez cette espèce, du corps vertébral ont en général des surfaces lisses (fig. 69) ; on distingue des ostéoblastes mais la population cellulaire est pauvre.

*Cette expérience a été réalisée en collaboration avec Mme Chartier-Baraduc, Chargée de recherche au C.N.R.S. Laboratoire de Physiologie de l'Institut Océanographique, 195, rue St-Jacques, Paris 5ème.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU VI

Animaux	Calcémie (mg/l)	Surfaces de résorption %
Truites témoins (I) (eau du robinet) n = 5	101,8 ± 4,2	4,54 ± 0,47 (a)
	P < 0,01 (test t)	P < 0,001 (test F)
Truites (II) (eau privée de calcium + T_4) n = 5	77,0 ± 4,4	14,60 ± 0,49

a : erreur standard, n = nombre d'animaux

Les surfaces de résorption sont exprimées en % de la surface totale.

Chez les Truites traitées à la thyroxine, la résorption en larges cryptes des arcs neuraux est accentuée, mais le fait le plus remarquable est l'apparition de très nombreuses petites cryptes le long des rayons ornant le corps vertébral (fig. 70), chaque crypte est occupée par une cellule mononucléée résorbante (fig. 71-72). Nous avons mesuré toutes les surfaces bordées de cellules lysantes et présentant les caractéristiques de la résorption : soit ostéoblastes à fonction ostéoclastique, soit ostéoclastes plurinucléés. Chez ces Truites jeunes, les phénomènes d'ossification de cartilage sont encore importants ; nous avons, afin d'éliminer au maximum les erreurs pouvant être causées par ce phénomène, négligé toutes les surfaces osseuses en contact avec le cartilage. Il apparaît (tableau VI) que la résorption est fortement accentuée après traitement à la T_4, mais cette déminéralisation par destruction complète de l'os n'entraîne pas d'hypercalcémie, tout au contraire, nous constatons l'apparition d'une hypocalcémie statistiquement significative.

4°) *Discussion*

Le traitement déminéralisant (eau privée de calcium + T_4) provoque chez la Truite une forte mortalité, celle-ci est probablement due, tout au moins en grande partie, à la perturbation importante du métabolisme calcique ; les résultats obtenus traduisent certains aspects de ce déséquilibre. Il y a baisse importante du taux de calcium dans le sang et à la fois déminéralisation du squelette vertébral par résorption de type ostéoclastique ; ceci peut s'expliquer par le fait, que tout apport calcique exogène notable étant supprimé, aussi bien par voie branchiale qu'intestinale, le squelette sert à ce moment de pourvoyeur de calcium. Ce résultat met en évidence le rôle que l'os peut jouer, dans certains cas, dans la régulation de la calcémie chez les Poissons. D'autres tissus, tel le muscle, perdent aussi, chez la Truite, une partie de leur calcium sous l'action de la triiodothyronine (T_3) et de la thyroxine (T_4) (Chartier-Baraduc, 1968) ; de même chez Fundulus hétéroclitus, un traitement à la TSH provoque une hypocalcémie (Pang, 1969).

Compte tenu de ce que nous connaissons de l'action de la T_4 sur l'os des Mammifères et à la lumière des résultats obtenus au cours de cette expérience, nous pensons que cette hormone peut, dans certains cas, chez les Poissons, favoriser une certaine forme de résorption que nous assimilons à une résorption ostéoclastique. Le facteur — privation de calcium exogène — s'il favorise la raréfaction du

Source : MNHN, Paris

taux de calcium dans les liquides physiologiques et les tissus mous ne peut être, à notre avis, responsable à lui seul de l'accentuation de la résorption osseuse observée.

La T_4 agit-elle directement sur l'os, ou bien par l'intermédiaire d'une glande, équivalente de la parathyroïde des Vertébrés supérieurs, stimulée par l'hypocalcémie induite ? L'état actuel de nos recherches ne nous permet pas de trancher nettement ce problème mais nous pensons qu'une action directe sur l'os est probable.

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE II

MISE EN ÉVIDENCE DE L'ACTION DE PLUSIEURS FACTEURS TENDANT A RÉDUIRE LA RÉSORPTION OSTÉOCLASTIQUE.

Si l'homéostasie calcique chez les Poissons Téléostéens est parfaitement régulée (Copp, revue, 1970), les mécanismes de cette régulation ne sont pas exactement connus.

Chez les Vertébrés supérieurs, les nombreuses recherches entreprises au cours de ces dernières années ont permis de démontrer que le maintien de la calcémie est l'enjeu de l'action de deux hormones principales : la parathormone (PTH), hypercalcémiante, sécrétée par les parathyroïdes stimulées par une hypocalcémie ; la calcitonine (CT), hypocalcémiante, synthétisée par le corps ultimobranchial (Poissons, Batraciens, Reptiles, Oiseaux) et les cellules C de la thyroïde des Mammifères et de certains Oiseaux (Stoeckel et Porte, 1969) stimulés par une hypercalcémie. Ces deux facteurs (PTH et CT) agissent, chez les Mammifères, en partie par action directe sur l'os, le premier en favorisant particulièrement la résorption ostéoclastique, le second en tendant à l'inhiber (Copp, revue, 1970).

Chez les Poissons, il est en principe entendu qu'il n'y a pas de parathyroïdes ; l'os cellulaire des Téléostéens est pourtant, dans certaines conditions, le siège d'une forte résorption ostéoclastique (Lopez 1970 c ; Lopez et Martelly-Bagot, 1971 ; Lopez et al., 1971). Cette résorption serait alors induite, nous le supposons, principalement dans un cas par les œstrogènes, et dans l'autre cas par une hormone thyroïdienne, la T_4 (II[ème] partie, chapitre I, p. 41). En 1954, Rasquin et Rosenbloom suggèrent, chez Astyanax mexicanus, le rôle possible dans la régulation du métabolisme calcique d'une glande commune à tous les Vertébrés gnathostomes, le corps ultimobranchial, ils assimilent cette formation à une parathyroïde. Puis, en 1967, Copp et al. découvrent que le corps ultimobranchial d'un Sélacien « Squalus suckleyi » renferme un facteur « calcitonin like » abaissant la calcémie chez le Rat, ils trouvent aussi de la CT chez Oncorhyncus nerka et Gadus macrocephalus (Copp et al., 1968). Le corps ultimobranchial est donc, dès ce moment, présumé jouer un rôle hypocalcémiant dans le métabolisme calcique chez les Poissons et il fait l'objet de nombreuses recherches.

Outre le corps ultimobranchial, les Téléostéens sont pourvus de glandes originales, les corpuscules de Stannius ; ceux-ci sont situés sur ou dans le rein et présentent toutes les caractéristiques d'une glande endocrine (Bobin, 1949). Leur intervention dans l'homéostasie calcique chez les Poissons a été démontrée pour la première fois par Fontaine (1964) : l'ablation de ces glandes, chez l'Anguille, entraîne une forte hypercalcémie.

A la lumière de ces différentes observations, nous avons cherché à savoir si, d'une part, la privation des corpuscules de Stannius de l'Anguille entraîne des modifications osseuses concomitantes de l'hypercalcémie enregistrée et d'autre part, si le corps ultimobranchial des Poissons répond à l'hypercalcémie ainsi que le font les cellules C de la thyroïde des Mammifères (Copp, revue, 1970). Ensuite, l'action de la CT de Saumon et de la CT porcine est expérimentée sur deux espèces de Poissons Téléostéens présentant un fort catabolisme osseux provoqué. L'effet de substances pharmacologiques ayant, chez les Mammifères, une action voisine de celle de la CT est aussi testé chez l'une de ces espèces.

I — Effet de l'ablation des corpuscules de Stannius sur le tissu osseux de l'anguille

1°) *Introduction*

L'ablation des corpuscules de Stannius, chez l'Anguille maintenue dans l'eau du robinet, entraîne une augmentation importante de la calcémie (Fontaine, 1964), elle est sensible au bout de deux semaines,

Source : MNHN, Paris

atteint son maximum au bout d'un mois (Fontaine, 1967) et ensuite régresse ; cette élévation de la teneur en calcium du sang s'accompagne d'autres modifications ioniques en particulier d'une baisse de la phosphatémie. Ces résultats ont été confirmés par Ogawa (1968) chez Carassius auratus, Chan (1969) chez Anguilla japonica et Butler (1969) chez Anguilla rostrata, tous ces Téléostéens ayant un os cellulaire.

D'où provient cette surcharge en calcium sérique ? Certains auteurs pensent que la privation de corpuscules de Stannius provoque une augmentation de la réabsorption du calcium au niveau du rein (Chester Jones et al., 1967) ; plus récemment Butler (1969) émet l'hypothèse d'une déminéralisation du tissu osseux. Pourtant, dès 1967, Fontaine signale que les altérations ioniques provoquées par l'absence de corpuscules de Stannius sont dépendantes de la teneur en calcium du milieu ambiant ; en effet, si les Anguilles sont maintenues en eau déminéralisée, l'hypercalcémie et la baisse de la phosphatémie sont nulles. Ces résultats, d'après ce dernier, tendent à montrer que les corpuscules de Stannius jouent un rôle dans les échanges des ions calcium avec le milieu extérieur. Il nous a donc paru intéressant de mettre en évidence ce qui se passe, en fait, après ablation de ces glandes, au niveau du tissu osseux, chez des Anguilles n'ayant subi aucun traitement et chez les Anguilles ♀ mûries expérimentalement.

2°) *Protocole expérimental*

a) Les prélèvements sont faits sur des pimpeneaux argentés d'un poids moyen de 65 g. Stabulant depuis Novembre dans l'eau du robinet (température = 18 à 20 °C), ils sont opérés fin Décembre. Séparés en trois lots, ils subissent les traitements suivants :

— Lot n° 1 (8 animaux) : ablation des corpuscules de Stannius.

— Lot n° 2 (8 animaux) : ces Anguilles subissent le même protocole opératoire que celles du lot n° 1 à l'exception de l'ablation des corpuscules de Stannius et servent de témoins.

— Lot n° 3 (8 animaux) : constitué d'Anguilles privées de corpuscules de Stannius en même temps que celles du lot n° 1 ; celles-ci, 4 semaines après l'opération, lorsque leur calcémie est supposée être au maximum, reçoivent en 5 injections intrapéritonéales journalières, un extrait de corpuscules de Stannius lyophilisés d'Anguille à la dose de 1 mg pour 100 g de poids (Fontaine, 1967).

Les lots n° 1 et 2 sont sacrifiés 4 semaines après l'opération, le lot n° 3, 5 semaines après.

b) 2 Anguilles ♀ argentées subissent l'ablation des corpuscules de Stannius, elles sont ensuite conduites à maturation en compagnie d'Anguilles non opérées, selon le protocole déjà décrit (IIème partie, chapitre I). Lors du sacrifice, leur RGS était de 40 à 20 et la calcémie de 593 mg/l (la calcémie du second sujet n'a pu être mesurée).

c) Le calcul des surfaces remaniées a été effectué (à titre d'essai) chez deux animaux, l'un témoin, l'autre opéré, sur des coupes d'os provenant de différentes régions de l'axe vertébral ; nous n'avons pas enregistré pour le même animal de différence notable. Par la suite, au cours de cette expérience, l'étude histologique et les mesures ont toutes été faites sur les vertèbres caudales prélevées 2 cm en arrière de l'anus.

3°) *Résultats*

Chez l'Anguille ♂, quatre semaines après l'ablation des corpuscules de Stannius, la calcémie double ; la différence de teneur en calcium du sérum entre animaux témoins opérés et ceux privés de corpuscules de Stannius est statistiquement hautement significative (tableau VII). L'injection d'extraits de corpuscules provoque, au cours de cette expérience, ainsi que l'avait déjà remarqué Fontaine (1967), une chute (statistiquement significative) de l'hypercalcémie si on se réfère à celle des pimpeneaux sans corpuscules de la même expérience.

Chez les animaux témoins opérés, sur toutes les coupes transversales d'os vertébral (non décalcifiées, colorées à la fuchsine basique) et ceci pour chaque animal, nous observons des ostéoclastes pluri ou mononucléés logés dans leur lacune d'érosion (en moyenne deux par coupe transversale de vertèbre) alors que ceux-ci sont pratiquement inexistants dans l'os des pimpeneaux sans corpuscules de Stannius ; nous en avons observé deux pour les huit animaux étudiés en explorant dix coupes par animal. Le pourcentage des surfaces affectées par la résorption est beaucoup plus important chez les témoins (tableau VII) que chez les pimpeneaux privés de corpuscules de Stannius, la raréfaction du nombre

Source : MNHN, Paris

des ostéoclastes se traduit par une baisse du pourcentage des surfaces attaquées. Nous pouvons dire ici, puisqu'il y a disparition quasi totale des cellules agents de la résorption, apparemment seules responsables du type d'érosion mesuré, qu'il y a diminution réelle de l'intensité du processus de résorption et non, comme l'on pourrait être en mesure de le penser, diminution de la vitesse du phénomène. En effet, on pourrait supposer, que chez les témoins, la résorption est deux fois plus rapide que l'apposition (Richelle et Onkelinx, 1969).

TABLEAU VII

Pimpeneaux (Anguilles ♂)	Nombre d'animaux	Calcémie mg/l	R % (b)
Témoins opérés	8	119,4 ± 6,3 (a)	14,33 ± 1,8
		P < 0,001 (test t)	0,01<P<0,05(test F)
Pimpeneaux privés de corpuscules de Stannius	8	273,3 ± 22,6	8,93 ± 0,8
		P < 0,02 (test t)	P > 5 %
Pimpeneaux sans corpuscules de Stannius injectés d'extrait de corpuscules de Stannius	8	201,25 ± 13,2	8,56 ± 1,1

a = erreur standard

b = les surfaces de résorption (R) sont exprimées en % de la surface totale.

Les animaux, sans corpuscules, ayant subi des injections d'extrait de corpuscules de Stannius, ne présentent pas (tableau VII) une réapparition de la résorption ostéoclastique comparable à celle observée chez les témoins pourvus de ces glandes.

Chez les deux Anguilles ♀, privées de corpuscules de Stannius et conduites expérimentalement à maturation, le pourcentage des surfaces de résorption apparaît être plus faible (20,4 % et 19,5 %) que celui mesuré chez les Anguilles ♀ mûres non opérées (49,5 %), mais il reste encore plus important (fig. 50) que chez les Anguilles témoins immatures (15,5 %).

4°) *Discussion*

L'ablation des corpuscules de Stannius chez l'Anguille ♂, produit une hypercalcémie progressive : au bout de quatre mois, lorsque celle-ci est maximale, l'étude de l'os, contrairement à ce que l'on aurait pu attendre, met en évidence une importante réduction de la résorption ostéoclastique. Comme nous le verrons par la suite, les processus d'ostéolyse et l'halastasie ne sont en aucun cas modifiés dans le sens d'une déminéralisation. L'accroissement progressif du taux de calcium dans le sang ne peut provenir en aucun moment du squelette, certaines observations nous permettent de l'affirmer. Quatre mois après l'opération, la résorption ostéoclastique est très réduite ; si celle-ci était accentuée dans les semaines ou les mois qui suivent l'opération ainsi que Chan (1971) en formule l'hypothèse, des traces de ce catabolisme seraient encore visibles sur les coupes. En fait, le remaniement osseux ainsi que nous l'avons

Source : MNHN, Paris

décrit (fig. 16) avec changement de direction dans les lames osseuses dû à une apposition sur d'anciennes surfaces de résorption est, chez ces animaux, très peu important. L'os semble, tout au moins en ce qui concerne ce paramètre, mis au repos depuis plusieurs mois. La réinjection d'extrait de corpuscules de Stannius, faite à des animaux privés de ces mêmes glandes, ne provoque, en aucun cas, une stimulation de la différenciation cellulaire au profit des ostéoclastes, ni de ce fait une recrudescence de la résorption ostéoclastique. Donc, bien que l'absence de corpuscules de Stannius inhibe la résorption ostéoclastique, ceux-ci ne semblent pas la favoriser pour autant, tout au moins par action directe sur le tissu osseux.

Ces glandes contrôlent les entrées de calcium à partir du milieu extérieur (Fontaine, 1967) et aussi l'accumulation de cet ion dans divers tissus en particulier le muscle (Fontaine et Poncet, 1969 ; Chan, 1969), ils agissent aussi sur sa réabsorption au niveau du rein (Chester Jones et al, 1967) et montrent histologiquement des différences d'activité en relation avec des variations de la calcémie au cours du cycle physiologique du Saumon, Salmo salar, (Lopez, 1969 ; Fontaine et al., 1969). Par conséquent ils contribuent, pour une large part, à la régulation du taux de calcium sanguin. De ce fait, l'action des corpuscules de Stannius sur l'os, par l'intermédiaire d'une autre glande endocrine (corps ultimobranchial) sensible à certaines fluctuations de la calcémie, est à envisager.

II — Effet présumé de la calcitonine ultimobranchiale endogène chez l'anguille et le congre

1°) *Introduction*

A l'encontre des corpuscules de Stannius, organes propres aux Téléostéens, le corps ultimobranchial (C.U.B.) est une glande commune à tous les Poissons osseux et cartilagineux. Si le C.U.B. chez tous les Vertébrés gnathostomes (aquatiques et terrestres) jusqu'à la classe des Oiseaux comprise, présente une structure bien individualisée, chez les Mammifères, les cellules ultimobranchiales migrent et se logent dans la thyroïde, ce sont les cellules parafolliculaires ou cellules C. L'origine embryonnaire commune du C.U.B. des Vertébrés inférieurs et des cellules C de la thyroïde des Mammifères est aujourd'hui démontrée (Godwin, 1937 ; Pearse et Carvalheira, 1967).

Chez certains Mammifères (Chien et Rat), après perfusion de la glande thyroïde avec du sang plus ou moins enrichi en calcium, les cellules C thyroïdiennes sont stimulées (Foster et al., 1964 ; Pearse, 1966) ; Robertson (1968 a, b) travaillant sur un Batracien, Rana pipiens, rendu hypercalcémique en lui injectant de la vitamine D2 et en le maintenant dans une solution de $CaCl_2$ décrit une hypertrophie du C.U.B. Compte tenu du fait que le C.U.B. des Poissons est très riche en calcitonine (Copp, revue, 1970), il nous a paru intéressant de savoir si l'hypercalcémie, dans ce groupe, stimule l'activité de cette glande.

Le C.U.B. est alors étudié : chez l'Anguille ♀ au cours d'hypercalcémies expérimentales, l'une survenant à la suite de la maturation provoquée par injections d'hypophyse de Carpe (Fontaine et al., 1964), l'autre induite par l'ablation des corpuscules de Stannius (Fontaine, 1964, 1967), chez le Congre ♀ au cours de son évolution sexuelle, celui-ci présentant alors une forte calcémie (Fontaine et coll., résultats inédits)*

2°) *Protocole expérimental*

Les prélèvements sont faits sur :

1° Des Anguilles ♀ conduites à maturité génitale (protocole déjà décrit p. 33), certaines sont sacrifiées à maturation complète, d'autres en cours de maturation.

a) *maturation en cours* (voir tableau III, p. 33)

Les animaux présentent, lors du sacrifice, un degré d'évolution qui est fonction du nombre d'injections d'extrait hypophysaire de Carpe reçues. Au cours de cette expérience, l'élévation du calcium sanguin est en rapport étroit avec la croissance du RGS.

*Cette étude est entièrement réalisée en collaboration avec Mme Peignoux-Deville, attachée de recherche au C.N.R.S. Laboratoire de Physiologie du Muséum (Paris 5ème).

Source : MNHN, Paris

b) *maturation complète*

1. Un jour après ouverture du pore génital (Ca 200 mg/l)
2. 5 jours après ouverture du pore génital (Ca 1000 mg/l)
3. 42 jours après ouverture du pore génital (Ca 2000 mg/l)
4. Avant ouverture du pore génital RGS = 34 (Ca 1240 mg/l)

Au moment où l'animal atteint la maturité génitale, on constate que la calcémie est toujours augmentée, mais cette augmentation peut être très variable, la calcémie variant de 200 à 1 000 pour des sangs prélevés le jour même ou dans les deux ou trois jours qui suivent immédiatement l'ouverture du pore génital.

2° Des Congres ♀ sacrifiés au cours de leur évolution génitale et présentant, en relation avec des RGS importants, une légère hypercalcémie (II[e] partie, chapitre I, p. 37).

3° Des Anguilles ♂ privées de corpuscules de Stannius (voir détails de l'expérience, chapitre II, II[eme] partie, p. 45). Dans ce cas, la calcémie s'élève puis décroît lentement. Le C.U.B. est prélevé lorsque celle-ci est maximale.

Signalons que, pour les Anguilles mûres, il s'agit principalement d'une élévation du taux de calcium non ultrafiltrable (Fontaine et Chartier-Baraduc, résultats inédits) alors que, dans le cas de l'ablation des des corpuscules de Stannius, il s'agit d'une augmentation du calcium ultrafiltrable (Chan, 1971).

3°) *Résultats*

Le C.U.B. de l'Anguille et du Congre est une formation épithéliale, nettement délimitée, située ventralement entre le sinus veineux et la paroi musculaire de l'œsophage. Chez ces deux espèces c'est une glande vésiculeuse, constituée de deux lobes, dont l'épithélium pseudostratifié forme par endroits des évaginations (fig. 73-75-77). Une membrane basale très nette, fortement PAS +, limite l'organe ; elle est bordée de très fins capillaires sanguins, situés dans le conjonctif qui entoure la glande (fig. 75-77).

Chez les animaux témoins (Anguilles ♀ et Congres ♀, fig. 73-75-77) l'épithélium est constitué de cellules cubiques à cytoplasme faiblement granuleux, possédant un petit noyau très basophile à nucléole peu apparent ; en certains endroits les cellules prolifèrent, s'exfolient, leur noyau devient pycnotique et elles tombent dans la lumière de la vésicule, souvent encombrée d'une substance amorphe PAS +.

Chez les Anguilles ♀ mûres et les Congres ♀ évolués (Peignoux-Deville, Lopez, publication en cours) sexuellement et hypercalcémiques (fig. 74-76-78), l'aspect de la glande est totalement modifié. Chaque lobe hyperplasique forme de gros bourgeons, pour la plupart en collapsus ; l'épithélium est deux à trois fois plus haut que chez les témoins, les mitoses sont très nombreuses, il est formé de cellules empilées, étroitement imbriquées et morphologiquement différentes. Les moins évoluées, près de la basale, ont un cytoplasme renfermant des amas compacts de granules sécrétoires ; leur noyau dilaté présente un gros nucléole très colorable. Plus près de la lumière, elles sont hypertrophiées, piriformes, leur cytoplasme est dans de nombreux cas dégranulé, le noyau reste très clair ; le pôle apical de ces cellules, arrondi et saillant, est bordé d'une frange qui apparaît constituée de noyaux pycnotiques et de cellules en voie de dégénérescence. Les vaisseaux sanguins, très dilatés, prennent une forme triangulaire caractéristique un angle repoussant la basale et s'insinuant entre les cellules (fig. 76-78). Nous avons observé des îlots de granulations situés en dehors des cellules, extérieurement à la glande, au voisinage immédiat des capillaires ; une constatation à peu près analogue a été faite sur Rana pipiens (Robertson, 1965). Ces sécrétions PAS + semblent être histochimiquement de même nature que les sécrétions intracytoplasmiques. Nous serions en présence, en ce qui concerne tout au moins les granulations décelables au microscope optique, de mucopolysaccharides (Lopez et al., 1968). Des résultats récents (Peignoux-Deville, Lopez, publication en cours) permettent de montrer, dans le cas d'Anguilles ♀ sacrifiées en cours de maturation, que l'activité du C.U.B. croît progressivement avec la calcémie et que cette activité n'est notable qu'à partir d'une élévation du taux de calcium sanguin nettement supérieure à la moyenne (220 mg/l). Chez l'Anguille A (RGS = 10, Ca = 115 mg/l) (tableau III, p. 33) le C.U.B. semble en état de présynthèse, l'épithélium est bas, les cellules cubiques mais les noyaux et nucléoles sont déjà volumineux et l'irrigation importante, les granulations sont rares ; chez les Anguilles B (RGS = 21, Ca = 220 mg/l) et C (RGS = 29 ; Ca = 460 mg/l) l'hyperactivité est nette : l'épithélium double sa hauteur, les cellules prennent une forme en massue très caractéristique, les noyaux sont clairs avec des nucléo-

Source : MNHN, Paris

les trés colorables et denses (surtout dans le cas C), de fines granulations apparaissent. Le C.U.B. de l'Anguille D (ponte spontanée, Ca = 500 mg/l) est en état d'hyperactivité totale, les granulations sont volumineuses et abondantes, les mitoses nombreuses et l'irrigation intense. L'évolution de l'activité du C.U.B. suit absolument celle de la résorption ostéoclastique observée dans l'os de ces animaux ; nous avons, en effet, déjà signalé (II[ème] partie, chapitre I, p. 35) que celle-ci encore restreinte chez l'Anguille A augmente d'une façon significative chez l'Anguille B pour atteindre une ampleur maximale chez les animaux C et D. Un certain niveau de catabolisme osseux semble être nécessaire pour que la stimulation du C.U.B. soit effective.

Le C.U.B. des Anguilles hypercalcémiques privées de corpuscules de Stannius est aussi stimulé histologiquement (cytoplasmes dilatés avec nombreuses granulations PAS +, noyaux volumineux), mais cependant plus faiblement que celui de l'Anguille ♀ et du Congre ♀ sexuellement évolués, si l'on se réfère au critère de la hauteur épithéliale (Lopez et al., 1968).

4°) *Discussion*

D'après ces résultats, l'élévation de la calcémie, chez certains Poissons Téléostéens, semble bien entraîner une forte stimulation du C.U.B. Celle-ci apparaît chez l'Anguille ♂, au cours d'une hypercalcémie induite par la suppression des corpuscules de Stannius, mais aussi, chez l'Anguille ♀ et le Congre ♀, dans deux cas différents de maturation provoquant des élévations du taux du calcium sanguin. Une relation étroite existant, chez les Poissons, entre l'hypercalcémie et la stimulation du C.U.B. est contestée par Pang (1971) ; celui-ci obtient des résultats contradictoires, chez Fundulus kansæ, et il suppose, en particulier, que les effets obtenus, dans le cas de l'Anguille ♀ mûre, sont dus à l'action des hormones hypophysaires contenues dans l'extrait d'hypophyse de Carpe injecté. Cette objection est réfutable parce que, d'une part, des résultats similaires sont obtenus chez le Congre ♀ naturellement mature, n'ayant subi aucun traitement et dont la calcémie est élevée par rapport à celle des Congres ♀ immatures, et d'autre part, des fluctuations de la calcémie d'origine totalement différente (Lopez et al., 1968 ; Deville, Lopez, 1970), sont capables de provoquer des modifications de l'activité ultimobranchiale chez plusieurs espèces de Téléostéens (Anguille, Saumon).

Signalons qu'une étude des corpuscules de Stannius, chez l'Anguille ♀ mature et le Congre ♀ mûr, montre que ces glandes sont au repos, soit inactives, soit en fin de « déplétion », nous penchons plutôt pour cette dernière interprétation car si les cellules sont petites et dépourvues de granulations, groupées en follicules arrondis avec une irrigation faible (autant de critères d'inactivité), par contre, les noyaux sont sphériques, clairs, avec de gros nucléoles très apparents ; les corpuscules auraient donc présenté une certaine activité au cours du processus de maturation. Rappelons d'ailleurs, que les corpuscules de Stannius (Lopez, 1969 ; Fontaine et al., 1969), tout comme le C.U.B. (Deville et Lopez, 1970) montrent, au cours du cycle vital du Saumon, des variations d'activité, en rapport avec des fluctuations de la calcémie, de plus, ces deux glandes sont fortement stimulées chez des Poissons vivant en perpétuelle surcharge calcique, tels les Poissons perroquets (Scarus species) brouteurs de coraux, dont les calcémies sont d'ailleurs assez élevées (Fontaine et al., 1972). Nous sommes donc en accord avec la conception de Chan (1971) tendant à montrer une interaction entre les corpuscules de Stannius et le C.U.B. dans la régulation de l'homéostasie calcique, chez les Poissons Téléostéens.

Le C.U.B. des Poissons Téléostéens agit-il en sécrétant de la CT, comme le font les cellules C, chez les Mammifères, du moins pro parte, en freinant le catabolisme osseux ? Chez l'Anguille ♀ et le Congre ♀, sexuellement évolués, la résorption ostéoclastique est, nous l'avons constaté, très importante en dépit de l'hyperactivité des cellules ultimobranchiales donc du taux de CT endogène sécrété; nous pensons que cette hormone tend, dans une certaine mesure, à endiguer cette résorption (en effet nous avons observé, chez le Congre, bon nombre d'ostéoclastes en régression, fig. 62-64) mais que son effet est insuffisant.

Chez les Anguilles ♀ matures, privées de corpuscules de Stannius, nous avons constaté (chapitre II, tableau VII, p. 46) que la résorption ostéoclastique physiologique de base se trouve réduite ; puisque le C.U.B. est, à ce moment, stimulé par l'hypercalcémie induite, l'on peut logiquement supposer que c'est par l'intermédiaire de l'action « calcitonin-like » de cette glande. Dans ce cas, celle-ci agirait comme

Source : MNHN, Paris

un système régulateur de l'homéostasie calcique, comme s'il tentait de juguler une hypercalcémie qui, bien que n'étant pas d'origine osseuse (Lopez, 1970 b) peut être diminuée par une réduction de la résorption supprimant ainsi une certaine décharge calcique dans le sang.

III — Effet, sur l'os de l'Anguille et de la Truite, de calcitonines exogènes, administrées en traitement de longue durée

A — *Introduction*

L'hypothèse selon laquelle le C.U.B., sécrétant de la CT, jouerait un rôle dans la régulation du métabolisme calcique chez les Poissons, se devait d'être démontrée. Les expériences destinées à prouver l'action de la CT, sur la calcémie des Téléostéens, ont donné des résultats souvent contradictoires bien que, l'ablation du C.U.B., chez l'Anguille japonaise, soit suivie d'une nette hypercalcémie (Chan, 1969). Pang et Pickford (1967) montrent que la calcitonine porcine n'a aucun effet sur la calcémie de Fundulus hétéroclitus, mais Louw et al., (1967), obtiennent chez le Poisson Chat (Ictalurus melas) une baisse de la calcémie après injections de CT mammalienne purifiée, Chan et al. (1968) trouvent le même effet chez l'Anguille (Anguilla japonica). Des résultats récents mettent en évidence une action positive de la calcitonine de Saumon chez l'Anguille (Anguilla rostrata) maintenue en eau douce (Pang et Griffith, résultats inédits, Pang, 1971).

Toutes les calcitonines extraites du C.U.B. des Poissons Téléostéens se montrent très actives sur la calcémie des Mammifères, telles celles extraites du C.U.B. d'Oncorhynchus nerka et de Gadus macrocephalus (Copp et al., 1968) et de l'Anguille (Anguilla anguilla) (Moukhtar, résultats inédits). Une calcitonine de Saumon a été purifiée et ses propriétés chimiques étudiées (O'Don et al., 1969 a, b), sa séquence est aussi déterminée (Niall et al., 1969). Une hormone similaire a été synthétisée et celle-ci a les mêmes propriétés que l'hormone naturelle (Guttmann et al., 1970).

Il est en principe admis que les calcitonines, provenant des Vertébrés inférieurs (calcitonines ultimobranchiales), agissent, chez les Mammifères, selon le même mécanisme que celui de l'hormone mammalienne (calcitonine thyroïdienne) c'est-à-dire en réduisant la résorption ostéoclastique par diminution du nombre des ostéoclastes (Milhaud et al., 1965 ; Foster et al., 1967). Quelle est l'origine de l'action hypocalcémiante de la CT chez certains Poissons, que cette hormone soit d'origine mammalienne ou non, agit-elle aussi directement au niveau osseux ? C'est ce que nous nous proposons de vérifier et dans ce but nous avons expérimenté l'action de deux CT (l'une synthétique similaire de la CT de Saumon, l'autre naturelle d'origine porcine) chez deux espèces de Poissons Téléostéens, l'Anguille et la Truite.

B — *Action de la calcitonine synthétique de Saumon chez l'Anguille femelle mature*

1°) *Introduction*

L'os de l'Anguille ♀ mature présente une forte résorption ostéoclastique (fig. 53-54), le C.U.B de ces animaux est très stimulé (fig. 74-76), stimulation en relation étroite avec l'élévation de la calcémie et l'apparition d'une forte résorption ostéoclastique. Nous avons émis l'hypothèse de la sécrétion d'une CT endogène qui tendrait à inhiber la résorption osseuse. Compte tenu du fait que l'effet de la CT, chez les Mammifères, est surtout effective chez des animaux ayant un fort catabolisme osseux (Hirsch et Munson, revue, 1969) nous avons pensé être en présence d'un matériel de choix afin de tenter de mettre en évidence l'action de la CT de Saumon sur l'os d'un Téléostéen.

2°) *Protocole expérimental*

10 Anguilles ♀ argentées maintenues en eau de mer sont cooduites à maturation, elles reçoivent des injections intrapéritonéales bihebdomadaires de 1 mg pour 100 g de poids d'extrait hypophysaire de Carpe, ceci jusqu'à complète maturation.

Source : MNHN, Paris

— Deux mois après le début de l'expérience (lorsque le catabolisme osseux est supposé être déjà important) 4 d'entre elles reçoivent des injections journalières intrapéritonéales de CT synthétique de Saumon préparée par la Maison SANDOZ*. Chaque injection est de 0,003 U MRC/g de poids* (43 injections). La CT est injectée à pH 4,2 dans un solvant gélatiné destiné à prolonger l'action de l'hormone.

— Les 6 Anguilles restantes subissent la maturation sans traitement annexe, 4 serviront de témoins, les 2 autres, à maturité génitale complète, (ponte spontanée), le traitement à l'hypophyse de Carpe étant terminé, reçoivent des injections journalières de CT synthétique de Saumon à la dose de 0,003 U MRC/g de poids (11 injections).

— 4 Anguilles argentées ♀ témoins sont maintenues en eau de mer pendant toute la durée de l'expérience, elles reçoivent en même temps que les Anguilles traitées à la CT, des injections de solvant gélatiné. Les calcémies de départ et en cours de traitement sont mesurées sur le sérum provenant de sangs prélevés par ponction cardiaque.

Les Anguilles mûres témoins et traitées, sont sacrifiées dès le début de la ponte, les Anguilles injectées de CT en fin de maturation dès la dernière injection. Les RGS de ces animaux sont compris entre 43 et 60 ; malgré l'émission d'œufs ils restent assez élevés au moment du sacrifice. Les RGS des Anguilles témoins immatures sont < 10.

3°) *Résultats*

TABLEAU VI1I

Animaux Anguilles ♀	Traitement	Calcémie (mg/l)				
		Départ	3 mois après début expérience	Maturité complète	Injection de CT	Fin de traitement
Témoins non matures	solvant gélatiné					121 135 130 132
Animaux traités						
Matures 1		170	370	564		
2	hypophyse	140	170	320		
3	de Carpe	170	172	800		
4		165	148	500		
5	hypophyse	118	210	490		
6	de Carpe	152	180	555		
7	+ CT de	100	157	534		
8	Saumon	110	220	486		
9	hypophyse	100	165	880	ponte	330
10	de Carpe	122	150	805	ponte	427

(1) * La Maison SANDOZ a eu l'amabilité de nous fournir la calcitonine de Saumon. Nous remercions vivement les Docteurs AUDIBERT et ANDERMAN (service de recherches médico-biologiques, SANDOZ) qui ont bien voulu s'intéresser à nos travaux.

(2) * MRC. L'activité biologique de la CT est exprimée en unités définies par le « Medical Research Council » (MRC). 1 mg de calcitonine porcine pure contient approximativement 200 unités MRC.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU IX

Animaux Anguilles ♀	Traitement	R %	IO
Témoins non matures	Solvant gélatine	13,45 ± 0,66 (a)	0,022 ± 0,006
		P < 0,001 test F	P < 0,001 test t
Animaux traités — Matures 1			
2	hypophyse de Carpe	46,52 ± 5,19	0,55 ± 0,04
3			
4		P < 0,001 test F	P < 0,001 test t
5	hypophyse de Carpe + CT	27,87 ± 2,38	0,28 ± 0,02
6			
7			
8			
9	CT après ponte	20,0	0,16
10		15,5	0,12

a = erreur standard
R % = surfaces de résorption exprimées en % de surface totale
IO = index ostéoclastique

La calcémie des Anguilles recevant de la CT en cours de maturation — en tenant compte des variations individuelles importantes survenant lors d'un tel traitement (Lopez et al., 1970) — augmente dans les mêmes proportions que celles des Anguilles non soumises au traitement à la CT (tableau VIII). Par contre, des injections répétées de CT à la même dose, chez des Anguilles matures ayant pondu et ne recevant plus d'extrait hypophysaire provoquent une forte chute du taux de calcium sanguin (tableau VIII).

L'os vertébral des Anguilles ♀ matures présente, par rapport à celui des Anguilles immatures, une élévation considérable du pourcentage des surfaces atteintes par la résorption ostéoclastique (fig. 79-80-83) et du nombre des ostéoclastes exprimés ici par l'index ostéoclastique (IO, tableau IX). Ces résultats confirment ceux obtenus lors d'une précédente expérience (Lopez et Martelly-Bagot, 1971).

Chez les animaux du même lot, traités à l'hypophyse de Carpe et à la CT, les surfaces en résorption, bien que nettement réduites par rapport à celles des Anguilles recevant uniquement de l'hypophyse de Carpe, sont encore beaucoup plus importantes que chez les témoins immatures (fig. 84-84, tableau IX). Le résultat, le plus net, porte sur la baisse de l'index ostéoclastique (tableau IX) permettant d'affirmer qu'il s'agit bien d'une diminution de l'intensité de la résorption ; d'ailleurs, l'observation des coupes montre que certains ostéoclastes sont en voie de désagrégation (fig. 85), d'autres présentant un aspect de cellule active sont cependant très éloignés des surfaces osseuses, ce qui permet de douter

Source : MNHN, Paris

de leur efficacité ; il a été montré, chez un Mammifère (Souris), que la CT fait disparaître la bordure striée des ostéoclastes (Kallio et al., 1971). Les cellules ostéoprogénitrices sont peu actives contrairement à ce que nous observons chez les Anguilles ♀ mûres non injectées de CT. Dans le cas des Anguilles traitées avec cette hormone (CT), après la ponte (fig. 82), le nombre des ostéoclastes est très réduit (fig. 86) l'index ostéoclastique est encore supérieur à celui trouvé chez les témoins immatures (tableau IX), mais la résorption osseuse n'excède plus beaucoup celle trouvée chez ces derniers (fig. 79).

Nous avons constaté, au cours de cette expérience, que les Anguilles ♀ traitées à la CT, pendant la maturation, étaient en parfait état physiologique, alors que celles non traitées, présentaient des signes évidents d'asthénie. Les deux Anguilles injectées de CT, en fin de maturation, montraient avant le traitement, un ramollissement accompagnant un manque de vitalité ; au moment du sacrifice, après avoir reçu la CT, leur comportement était à nouveau celui d'un animal normal.

4°) *Discussion*

La CT synthétique de Saumon ne réduit pas l'hypercalcémie chez les Anguilles ♀ matures' lorsqu'elle est injectée en cours de maturation, parallèlement au traitement à l'extrait hypophysaire de Carpe. Par contre, lorsque cette hormone est administrée seule, à des Anguilles ayant pondu, l'action sur la calcémie est très importante, celle-ci est diminuée de moitié.

Dans le premier cas (traitement à la CT en cours de maturation) nous pouvons supposer que certains effets, dus à l'administration d'hypophyse de Carpe, limitent l'action osseuse de la CT et masquent les fluctuations de la calcémie qu'elle peut entraîner ; elles sont probablement faibles, puisque la résorption ostéoclastique n'est réduite que dans certaines proportions. La stimulation de la résorption, chez l'Anguille ♀ mature, supposée être en grande partie d'origine œstrogénique, est sans doute prédominante. L'accroissement du taux de calcium sanguin n'est d'ailleurs pas provoqué, en totalité, par le catabolisme osseux ; la raréfaction de la masse musculaire (constatation couramment faite au cours de la maturation) riche en calcium chez l'Anguille (Fontaine et Ponget, 1969), et la réabsorption des œufs (eux aussi riches en calcium, Fontaine et coll., résultats inédits) restant dans la cavité cœlomique, jouent certainement un rôle. Dans le second cas (traitement à la CT en fin de maturation) l'arrêt du traitement à l'hypophyse de Carpe provoque un ralentissement de la stimulation des gonades ; de plus, après la ponte, elles secrètent sans doute moins d'œstrogènes. Une expérience précédente (Lopez et Martelly-Bagot, 1971) nous a montré que la résorption osseuse reste cependant importante à ce moment ; elle atteint un niveau suffisant pour que l'effet de la CT soit sensible et celui-ci contrebalance totalement l'action œstrogénique alors plus faible. Notons qu'il a été récemment montré, chez les Mammifères, que les œstrogènes peuvent inhiber l'action de la CT. (Sørensen, Hindberg 1971, Currie, Black 1972).

La CT synthétique de Saumon agit sur l'os de l'Anguille présentant une forte résorption ostéoclastique, en tendant à réduire celle-ci. Cette hormone semble à la fois favoriser la dédifférenciation des ostéoclastes et inhiber la formation de ceux-ci ; les cellules ostéoprogénitrices apparaissant nettement au repos. Une étude histologique (Peignoux-Deville, Lopez, résultats inédits) ne montre une réduction de l'hyperactivité du C.U.B. que lorsque la CT provoque une chute de la calcémie, c'est-à-dire dans le cas d'injections après arrêt du traitement à l'hypophyse de Carpe. Ce résultat nous apporte un argument supplémentaire en faveur de l'hypothèse précédemment émise, selon laquelle la sécrétion de CT par le C.U.B. des Poissons Téléostéens serait contrôlée par la teneur en calcium du sang.

C — *Action de la calcitonine porcine (CT) chez la Truite non traitée et la Truite traitée à la thyroxine (T_4)*

1°) *Introduction*

L'effet de la CT sur la calcémie chez les Téléostéens est, nous l'avons déjà signalé, très controversé. Il se peut que certaines divergences constatées résultent de l'état du métabolisme du calcium au moment de l'expérimentation. En effet, chez les Mammifères, l'action hypocalcémiante de la CT est influencée par l'état physiologique de l'animal au moment du traitement ; l'hormone est sans effet sur des Rats soumis à un régime riche en calcium, tandis qu'elle abaisse nettement le taux de calcium dans

Source : MNHN, Paris

le sang, chez des Rats rendus hypercalcémiques par un traitement à la vitamine D ou à la PTH (Hirsch et Munson, revue, 1969). De la même façon, en élevant le catabolisme osseux, la thyroxine T_4 potentialise l'action hypocalcémiante de la CT (Milhaud et al., 1967 ; Moura, 1970). De plus, la CT synthétique de Saumon se montre active chez des Anguilles hypercalcémiques dont la résorption ostéoclastique est fortement stimulée.

Une déminéralisation osseuse, avec abaissement de la calcémie, est obtenue chez des jeunes Truites maintenues à jeun dans une eau privée de calcium, cette déminéralisation est nettement plus importante si on adjoint de la T_4 (Chartier Baraduc, résultats inédits, communication personnelle) et alors une forte résorption apparaît dans le tissu osseux vertébral (IIème partie, chapitre I, p. 35). En conséquence, nous avons tenté de mettre en évidence l'action de la CT porcine, sur des Truites d'une part, maintenues en eau du robinet et d'autre part, séjournant dans une eau privée de calcium + T_4.

2°) *Protocole expérimental**

Des Truites arc-en-ciel (20 g < poids < 30 g) sont réparties en deux groupes I et II. Le groupe I comprend deux lots (A et B) de 5 Truites placées en eau du robinet non courante (Ca = 80 mg/l), le groupe II, deux lots (C et D) de 5 Truites placées dans une eau privée de calcium et additionnée de T_4 à la concentration de 2 mg/l.

Les lots A et C (témoins) reçoivent, par animal, tous les deux jours une injection intrapéritonéale de solvant acétate de sodium (0,1 ml, pH 4,6) et les lots B et D, une injection de CT porcine à la dose de 50 mU MRC dans le solvant précité. Ce traitement s'étend sur trois semaines, les Truites sont maintenues à jeun. Température de l'eau : 12 à 13 °C.

La détermination des surfaces de résorption est faite sur des échantillons de colonne vertébrale tous prélevés au niveau de l'anus.

3°) *Résultats*

TABLEAU X

Truites	Calcémie mg/l	Surfaces de résorption %
Groupe I eau du robinet A	101,8 ± 4,2 (a) (5)	4,54 ± 0,47
Groupe I eau du robinet B (CT)	105,0 ± 2,8 (5)	3,92 ± 0,23
	Test t A↔C P<0,001	Test F A ↔ C P<0,001 A ↔ B P>5 % A ↔ D P>5 % C ↔ D P<0,001
Groupe II eau sans Ca + T_4 C	77,0 ± 5,4 (5)	14,60 ± 0,49
Groupe II eau sans Ca + T_4 D (CT)	77,0 ± 3,7 (5)	4,50 ± 0,38

a : erreur standard

Les surfaces de résorption sont exprimées en % de la surface totale.

( ): nombre d'animaux

*Cette expérience a été réalisée en collaboration avec Mme Chartier-Baraduc, chargée de Recherche au C.N.R.S. Laboratoire de Physiologie de L'Institut Océanographique, 195, rue Saint-Jacques, Paris 5ème.

Source : MNHN, Paris

Le traitement à la CT porcine des Truites maintenues en eau du robinet et des Truites mises en conditions de déminéralisation n'a aucun effet net sur la calcémie (tableauX), tout au moins en ce qui concerne les Truites utilisées pour l'histologie ; sur un plus grand nombre d'animaux une légère action (non significative) a été constatée (Lopez et al. 1970) après traitement déminéralisant.

Au niveau osseux, les surfaces attaquées par la résorption ostéoclastique sont très nettement réduites (tableau X). Chez les Truites privées de Ca et traitées à la T_4 + CT, le nombre des ostéoclastes et des cellules mononucléées lysantes que nous avons assimilées dans ce cas à des préostéoclastes (IIème partie, chapitre I, II), diminue et les surfaces osseuses prennent un aspect lisse.

L'effet de la CT est très faible chez les animaux séjournant en eau du robinet (tableau X).

4°) *Discussion*

Les résultats obtenus sur la Truite, ne nous permettent pas de montrer une action de la CT sur la calcémie, sans doute, d'une part, parce que chez les Téléostéens, les effets diffèrent selon les espèces étudiées et aussi selon les protocoles expérimentaux employés. De plus, chez le Lézard (Anolis carolinensis) aucune action de la CT sur la calcémie n'a pu être mise en évidence (Dix et al., 1970) ; la CT du Pigeon et du Poulet ne produit non plus, aucune modification valable du taux de calcium dans le sang chez les espèces respectives (Mac Intyre, 1969). Cette absence d'effet de cette hormone sur la calcémie est aussi fréquente chez l'Homme au cours de certains traitements de maladies osseuses (Bauo et al., 1969). D'autre part, dans le cas présent, il semble que l'action déminéralisante de la T_4, entraînant une chute de la calcémie, peut masquer de faibles variations de celle-ci provoquées par l'action de la CT au niveau de l'os, puisqu'elle réduit la résorption ostéoclastique donc supprime ainsi une certaine décharge d'ions calcium dans le sang.

L'effet de la CT sur le tissu osseux n'est sensible que chez les Truites traitées à la T_4 et non sur celles séjournant en eau du robinet ; nous confirmons ainsi, chez les Poissons, l'hypothèse émise à propos des Mammifères, selon laquelle un certain niveau du taux de résorption osseuse est nécessaire pour que l'action de cette hormone soit effective. Ce niveau convenable de l'ostéoclasie est assuré ici par l'action de la T_4, mais comme nous l'avons mis en évidence, chez l'Anguille, il peut être de toute autre origine, sans que l'activité de la CT en soit modifiée. Une étude histologique du C.U.B. de ces Truites montre un organe au repos, aussi bien chez celles traitées à la T_4 que chez celles ayant reçu des injections de CT (Lopez et al., 1971). Ce résultat est, à notre avis, lié au fait qu'en aucun cas, nous n'avons observé d'élévation statistiquement significative de la calcémie et souligne de nouveau l'importance de l'hypercalcémie dans la stimulation de cette glande.

Les calcitonines issues de groupes zoologiques ou même d'espèces différentes ont des structures chimiques divergentes (Tashjian et Munson, 1965 ; Moseley et al., 1968) et l'intensité de leurs effets sur les diverses catégories de Mammifères est aussi différente. Il est reconnu aujourd'hui que les CT ultimobranchiales sont plus actives chez les Mammifères, que les CT thyroïdiennes (Reynolds et al., 1970), ainsi la CT du Saumon du Pacifique est 25 à 50 fois plus active chez le Rat que la CT mammalienne (O'Dor et al., 1969 a) ; ceci est dû au fait que chez les Mammifères la dégradation de cette hormone est lente. D'après les résultats obtenus sur l'os des Poissons, tels l'Anguille et la Truite, nous constatons qu'il n'y a pas de spécificité zoologique puisque la CT mammalienne agit aussi bien chez les Poissons que la CT téléostéenne chez les Mammifères. Signalons toutefois, dans le cas de l'expérience effectuée sur les Truites, qu'il s'agissait d'animaux très jeunes et que ces derniers sont reconnus être plus sensibles à l'action de cette hormone (Hirsch et Munson, revue, 1969, p. 590).

IV — Action d'un phosphonate, le MDP, chez l'Anguille femelle mature

1°) *Introduction*

Fleisch et al. (1966) ayant constaté que du pyrophosphate est trouvé dans le plasma, les dents et l'os, chez l'Homme, supposent que cette substance peut jouer un rôle dans la régulation du métabolisme osseux. Après expérimentation, leur hypothèse se confirme et ils montrent (Fleisch et al., 1966) que

Source : MNHN, Paris

le pyrophosphate régule à la fois la formation et la destruction de l'os in vivo. L'effet du pyrophosphate est limité car celui-ci est rapidement scindé dans l'organisme, à l'endroit où les pyrophosphates sont à un taux élevé. L'un d'entre ces chercheurs, FRANCIS (cité par FLEISCH et al., 1966) met en évidence le fait que les polyphosphonates (ayant dans leur formule un pont P-C-P à la place du pont P-O-P du pyrophosphate) ont une action sur le cristal d'apatite. FLEISCH et al. (1968) montrent que les diphosphonates, grâce à leur pont P-C-P, sont plus stables et résistants à la pyrophosphatase que les pyrophosphates ; ils expérimentent l'action de deux diphosphonates et mettent en évidence une inhibition de la résorption ostéoclastique induite chez le Rat par de la PTH. Le monosodium diphosphonate (MDP) semble être le plus actif, c'est donc celui-ci que nous avons choisi afin de tenter de réduire la résorption ostéoclastique qui apparaît chez l'Anguille ♀ mature.

2°) *Protocole expérimental*

4 Anguilles ♀ sont conduites à maturation selon le protocole déjà décrit (II^ème partie, chapitre I, p. 33), lorsqu'elles présentent des signes évidents d'évolution sexuelle, ventre argenté et gonflé, pore génital distendu, deux d'entre-elles reçoivent selon FLEISCH et al. (1968) 5 injections intrapéritonéales (journalières) de MDP à la dose de 8,35 mg/injection dans 1 cm³ de tampon acétate pH 7,4. Les deux autres Anguilles témoins reçoivent parallèlement des injections de tampon. Les 4 animaux sont sacrifiés le jour suivant la dernière injection.

L'étude histologique est faite sur les vertèbres caudales toutes prélevées au niveau de l'anus.

3°) *Résultats*

Les deux Anguilles témoins ont, lors du sacrifice, des calcémies de 465 mg/l et de 485 mg/l avec des RGS respectifs de 39 % et de 27 %. Les deux Anguilles traitées ne présentent pas d'abaissement de la calcémie, celle-ci est de 475 mg/l et de 280 mg/l correspondant à des RGS respectifs de 63 et 26.

L'examen des coupes non décalcifiées montre une diminution des surfaces de résorption, elles sont de 12 % et 13,5 % chez les Anguilles ♀ matures injectées de MDP pour 38 % et 46 % chez les témoins ♀ matures. Pourtant le nombre des ostéoclastes ne diminue pas, l'index ostéoclastique est constant ($0{,}41 < IO < 0{,}48$) chez les 4 animaux. Les ostéoclastes observés ne sont pas pycnotiques, ni en voie de dédifférenciation, mais ils sont souvent très éloignés des surfaces osseuses, on les trouve surtout groupés dans les cavités délimitées par les trabécules des arcs hémaux.

4°) *Discussion*

Les diphosphonates préviennent une hypercalcémie induite par la PTH, chez le Rat (FLEISCH et al., 1968, 1969) et réduisent la résorption osseuse in vitro (calvaria de Souris) provoquée par la même hormone. Ces substances de synthèse, ainsi que le font les pyrophosphates naturels (l'existence de ceux-ci, chez les Poissons, reste à prouver) agissent en se fixant dans la couche hydratée du cristal d'apatite et retardent ainsi sa dissolution. Ce mécanisme d'action permet d'expliquer le fait que, chez l'Anguille, les surfaces de résorption soient diminuées alors que l'index ostéoclastique ne varie pas. On ne peut attribuer ce résultat à une augmentation des surfaces en apposition, nous n'avons observé aucun signe de stimulation ostéoblastique. L'action des ostéoclastes serait tout simplement inhibée par la protection du minéral osseux formé par les diphosphonates. L'os des Anguilles semble bien se comporter, à cet égard, comme celui des Mammifères.

Outre l'intérêt thérapeutique que présente, chez l'Homme, l'effet des phosphonates, des résultats récents (ORIMO et al., 1971) tendent à montrer que les pyrophosphates jouent un rôle important par l'intermédiaire de la pyrophosphatase, dans le métabolisme calcique des Mammifères ; l'altération de l'activité de cette enzyme serait directement impliquée dans le mécanisme d'action de la CT et de la PTH.

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE III

MISE EN ÉVIDENCE D'UNE RÉGULATION HORMONALE DE LA RÉSORPTION OSTÉOLYTIQUE

Le mot « ostéolyse » ainsi que nous l'avons déjà précisé sert aujourd'hui à désigner un phénomène biochimique auquel seuls les ostéocytes, ayant atteint la maturité, participent et par lequel la substance osseuse au voisinage de ces cellules est résorbée.

L'ostéolyse de nos jours étudiée couramment, dans l'os des Mammifères, était jusqu'ici ignorée en ce qui concerne l'os cellulaire des Poissons. L'étude des coupes non décalcifiées, nous a permis de mettre en évidence ce mode de déminéralisation chez différentes espèces de Téléostéens, à savoir, l'Anguille, la Truite, le Congre, et le Cyprin (1ere partie, chapitre III, p. 27). Nous allons tenter maintenant de déterminer s'il s'agit d'un processus inhérent au remaniement osseux et influencé seulement par des stimuli venant de l'os lui-même, ou bien, d'une fonction de l'ostéocyte sous contrôle hormonal, comme cela semble être le cas chez les Mammifères.

A — Étude de l'action des facteurs susceptibles de favoriser l'ostéolyse

1°) *Introduction*

De récents travaux tendent à montrer que tout comme la résorption ostéoclastique, la résorption ostéolytique est conditionnée par l'action de la PTH ; cette observation a été faite chez les Mammifères (Belanger et al., 1963 ; Baud, 1966, 1968 a), mais aussi chez les Batraciens (têtards de Rana catesbeiana ; Belanger et Drouin, 1966) et chez les Oiseaux ; dans le cas des Poules pondeuses, ostéoclasie et ostéolyse sont favorisées par l'injection d'extrait parathyroïdien (Taylor et Belanger, 1969).

L'intervention d'une PTH endogène en ce qui concerne l'ostéolyse chez les Poissons, est bien entendu exclue, mais il était important de savoir si certains facteurs (maturité sexuelle, T_4, œstrogènes) provoquant la résorption ostéoclastique chez ces derniers, stimulent aussi la résorption ostéolytique. Cette étude est faite sur l'Anguille, la Truite et le Cyprin traités selon des protocoles expérimentaux déjà décrits et chez le Congre ♀ immature et naturellement mature (IIeme partie, chapitre I).

2°) *Effet de la maturation génitale expérimentale, chez l'Anguille femelle, naturelle chez le Congre femelle*

L'os vertébral des Anguilles et des Congres matures fortement attaqué par la résorption ostéoclastique (fig. 53-54-61) nous apparaît, à l'observation sur coupes non décalcifiées, comme un tissu présentant un turnover très important ; les surfaces bordées d'ostéoblastes ne semblent pas réduites et ceux-ci présentent, en général, tous les caractères de cellules très actives (fig. 97-20).

Chez l'Anguille mûre, le nombre des ostéocytes n'est pas modifié (384/mm² pour 387/mm² chez les témoins non matures), il n'y a donc pas d'appauvrissement cellulaire. Pourtant chez l'Anguille mûre, comme chez le Congre mature, nous rencontrons, sur coupes non décalcifiées, bon nombre d'ostéocytes entourés par un halo de déminéralisation coloré par la fuchsine basique (fig. 87) ou le bleu de Toluidine ; d'autres sont situés dans des lacunes élargies de forme très irrégulière, quelquefois plusieurs

Source : MNHN, Paris

lacunes confluent (fig. 88-89-90). Certains de ces ostéocytes ostéolytiques sont pycnotiques et meurent, nous rencontrons ainsi quelques lacunes agrandies vides (fig. 91, 92).

TABLEAU XI

Animaux	Anguilles immatures	Anguilles matures	Congres immatures	Congres matures
Ostéolyse %	$4,5 \pm 0,6$ (a) n = 6	$41,2 \pm 4,5$ n = 8	$3,2 \pm 0,3$ n = 4	$39,4 \pm 4,2$ n = 6
n = nombre d'animaux (a) = erreur standard				

L'évaluation quantitative de l'activité ostéolytique des ostéocytes nous permet de constater que la maturation, tant naturelle qu'artificielle, provoque une très forte stimulation de ce mode de résorption. A propos de l'Anguille ,signalons que le passage eau douce — eau de mer, ne modifie pas l'intensité du phénomène (tableau I, p. 27). Cette ostéolyse, nous l'avons déjà remarqué (p. 28) atteint de préférence, chez l'Anguille, l'os lamellaire et spongieux des arcs vertébraux, moins compact que celui du corps vertébral. Chez le Congre, il n'y a pas à proprement parler de régions préférentielles car, chez cette espèce, le corps vertébral est formé, outre le manchon d'os compact, de trabécules rayonnants, assez minces, qui sont le siège d'une forte résorption ostéolytique chez la femelle mûre. Chez les deux espèces (Anguille ♀ et Congre ♀) lorsqu'ils sont immatures, l'os vertébral présente une ostéolyse fréquente surtout dans les couches osseuses les plus périphériques, tandis que, chez les mêmes animaux matures, les couches osseuses sont atteintes dans toute leur profondeur.

Dans le cas de l'Anguille ♀ nous avons, parallèlement à la résorption ostéoclastique, mesuré l'ostéolyse à différents stades de l'évolution sexuelle provoquée par injections d'extrait hypophysaire de Carpe.

TABLEAU XII

Anguilles ♀ sacrifiées à différents stades de maturité sexuelle	RGS	Calcémie mg/l	R %	IO	Ostéolyse %
A	10	115	14,3	0,08	10,2
B	21	220	29,7	0,20	34
C	29	460	33,3	0,46	39
D	ponte spontanée	500	30	0,48	37

R % = surfaces en résorption exprimées en % de la surface totale

IO = Index ostéoclastique portant sur les ostéoclastes multinucléés.

Source : MNHN, Paris

Nous remarquons, d'après ces résultats, que l'activité lysante des ostéocytes est stimulée dès le début du traitement à l'hypophyse de Carpe (Anguille A, 10,2 % pour 4,5 % chez l'Anguille immature, tableau IX) et elle atteint son ampleur maximale tout au début de l'évolution génitale (Anguille B, RGS : 21, ostéolyse 34 %) elle est alors concomitante d'une élévation déjà importante de la calcémie ; à ce moment, la résorption ostéoclastique n'est pas encore comparable à celle observée chez les Anguilles C et D, plus évoluées, surtout en ce qui concerne le nombre des ostéoclastes.

3°) *Absence d'effet de la T_4 chez la Truite et de l'œstrone chez le Cyprin*

L'effet de la T_4 a été expérimenté chez de jeunes Truites (voir protocole expérimental, IIème partie, chapitre I, p. 41) qui présentent, maintenues sans traitement dans l'eau du robinet, une forte ostéolyse (fig. 48), statistiquement plus élevée qu'elle ne l'est en général, chez les autres Téléostéens examinés (Apodes) maintenus dans les mêmes conditions (tableau I, p. 27). Nous avons montré dans la première partie de ce mémoire qu'il s'agit là d'une ostéolyse liée à la réduction du nombre des ostéocytes au cours de la maturation du tissu osseux. Compte tenu des particularités présentées par ce tissu jeune, nous avons établi selon les données de Baud et al. (1968), et Baud et Auil (1971) une formule ostéocytaire classant et évaluant, en % du nombre total de lacunes, les ostéocytes situés dans des lacunes lisses, les ostéocytes avec halo de déminéralisation ou situés dans des lacunes agrandies (ostéolytiques + ostéoplastiques) et les lacunes agrandies vides.

TABLEAU XIII

Formule ostéocytaire de l'os vertébral de "Salmo gairdnerii" Truite arc-en-ciel, placée en conditions déminéralisantes

Animaux	Ostéocytes dans lacunes lisses %	Ostéocytes (ostéolytiques + ostéoplastiques) %	Lacunes agrandies vides %
Truites témoins eau du robinet n = 5	66,2 ± 41 (a)	9,6 ± 1,8	24,2 ± 3,3
	P > 5 %	P > 5 %	P > 5 %
Truites traitées, eau sans Ca+T_4 n = 5	69,6 ± 1,5	7,2 ± 0,3	23,2 ± 1,7
n = nombre d'animaux		a = erreur standard	

Nous constatons que la proportion des ostéocytes situés dans des lacunes à parois lisses est comparable, dans les deux cas, et que le traitement à la T_4, chez les Truites maintenues en eau sans Ca, n'accentue pas le processus d'ostéolyse, il n'y a variation ni du nombre des ostéocytes ostéolytiques, ni des lacunes vides.

Si l'injection d'œstrone déclenche, chez le Cyprin (IIème partie, chapitre I, p. 39) une forte résorption ostéoclastique, le processus d'ostéolyse reste, chez les deux animaux traités, absolument stable :

Source : MNHN, Paris

le nombre des ostéocytes ostéolytiques est de 4,2 % chez les Cyprins témoins et de 3,9 % chez les Cyprins injectés d'œstrone.

Notons aussi que si l'ablation des corpuscules de Stannius, chez des Anguilles soumises à maturation, réduit la résorption ostéoclastique, elle n'a aucun effet sur la résorption ostéolytique qui reste très élevée (40,9 % ; Lopez et al., 1971).

4°) *Discussion*

Tous les facteurs provoquant la résorption ostéoclastique chez les différentes espèces de Poissons Téléostéens étudiés, ne stimulent pas l'ostéolyse. En fait, nous remarquons que seule la maturité génitale (naturelle ou artificielle), chez l'Anguille et le Congre ♀, provoque, parallèlement à une ostéoclasie intense, une nette élévation du taux des ostéocytes ostéolytiques. L'ostéolyse, chez l'Anguille, apparaît très tôt, dès le début du traitement à l'hypophyse de Carpe, avant que la valeur du RGS ne soit très élevée. Pourtant il ne s'agit pas d'une stimulation conditionnée uniquement par l'extrait hypophysaire, puisque cette dernière est tout autant importante, chez le Congre ♀ au cours de sa maturation naturelle. Chez l'Anguille soumise à maturation (ostéolyse précoce), on peut supposer que les gonades sécrètent des œstrogènes sous l'influence de l'hormone gonadotrope reçue, avant qu'il y ait un accroissement de la valeur du RGS et nous avons, en premier lieu, supposé que ces hormones sexuelles ♀ pouvaient jouer un rôle dans la stimulation de l'ostéolyse observée. Les résultats négatifs obtenus chez le Cyprin traité à l'œstrone nous conduisent à revoir ce point de vue. Pourtant la stimulation de ce mode de résorption est un phénomène lié au sexe puisque nous n'avons rien observé de tel chez le pimpencan mâle fluent ; de plus, chez un Mammifère, le Renne, il a été montré que, dans les bois, la résorption ostéolytique est surtout l'apanage des femelles, en outre elle est nulle chez les animaux castrés (Belanger et al., 1966). De récents travaux (Whitson et Suzuki, 1970) mettent en évidence, chez le Lézard, après injection d'œstradiol, une hypercalcémie et une résorption osseuse ostéolytique. Il subsiste donc un doute quant à l'absence d'effet des œstrogènes sur l'ostéolyse dans l'os des Poissons, ce point reste à approfondir. Nous pensons, par exemple, que le résultat négatif obtenu à propos du Cyprin peut être imputable au type d'œstrogène injecté, ou bien à l'état du métabolisme calcique, au moment de l'expérience, des Poissons utilisés.

Compte tenu du fait que la thyroïde est hypoactive chez l'Anguille ♀ et le Congre ♀ et que la T_4 n'augmente pas le taux de l'ostéolyse dans l'os de la Truite, l'effet de cette glande est probablement à exclure ; de même, est à écarter, tout au moins en grande partie, l'influence de stimuli venant de l'os lui-même lorsqu'il est le siège de profondes transformations, puisque celles-ci, telles celles provoquées par l'ostéoclasie, ne s'accompagnent pas toujours d'une recrudescence de l'ostéolyse (action de la T_4 sur l'os de la Truite, p. 41).

Si nous reprenons la discussion concernant l'action de la maturation sexuelle sur l'ostéoclasie, nous pouvons ainsi que nous l'avons fait pour cette dernière ,mettre en cause les corticostéroïdes (bien que, à notre connaissance, leur action sur l'ostéolyse périostéocytaire n'ait pas été mise en évidence chez les Mammifères). En effet il a été montré que l'interrénal des Anguilles ♀ matures est très stimulé (Olivereau, résultats inédits) et que la reproduction, chez certains Poissons, peut s'accompagner d'une corticostéroïdémie intense (Robertson et Wexler, 1959).

Chez les Poissons, contrairement à ce qui se passe à propos des Vertébrés supérieurs chez lesquels ostéoclasie et ostéolyse sont conditionnées par une même et seule hormone (PTH) (Baud, 1966, 1968 a ; Belanger et Drouin, 1966), ces deux processus de déminéralisation semblent être stimulés par des facteurs multiples. Cette hypothèse doit cependant être confirmée par la réalisation de travaux complémentaires.

B — Étude de l'action des calcitonines (CT) sur l'ostéolyse

1°) *Introduction*

La CT est, chez les Mammifères tout au moins, considérée comme l'hormone antagoniste de la PTH, en regard de l'action sur la résorption ostéoclastique. En général, chez ces derniers, l'ostéoclasie

Source : MNHN, Paris

est souvent accompagnée d'une déminéralisation par ostéolyse que ce soit après stimulation par la PTH (Belanger et al., 1963) ou bien par exemple au cours de l'ostéoporose sénile et humaine (Urist et al., 1963 ; Baud et al., 1969 b). Si la CT a comme effet primaire de diminuer la résorption ostéoclastique osseuse il est démontré aujourd'hui qu'elle peut aussi abaisser le taux de résorption ostéolytique (Baud, 1969 a.b) et cet effet ne serait pas négligeable dans la chute de la calcémie qu'elle provoque. Chez les Poissons nous avons pu au cours de ce travail montrer que, dans certaines conditions, cette hormone réduit aussi chez ces animaux, une résorption ostéoclastique importante ; peut-elle agir sur l'ostéolyse ? C'est ce que nous allons tenter de mettre en évidence.

2°) *Mise en évidence de l'effet de la CT synthétique de Saumon, chez l'Anguille femelle, pendant et après la maturation*

Nous avons mesuré (sur coupes non décalcifiées) l'action de la CT de Saumon sur l'ostéolyse chez l'Anguille ♀ au cours de sa maturation ; étude effectuée en même temps que celle de l'effet de la même hormone sur l'ostéoclasie. Les mesures sont faites après un traitement (CT synthétique de Saumon) administré : au cours de la maturation parallèlement aux injections d'hypophyse de Carpe, et après la ponte, les injections provoquant la maturation étant terminées (voir protocole expérimental, p. 51).

TABLEAU XIV

Anguilles ♀	Traitement	R %	Ostéolyse %	Calcémie mg/l
Témoins immatures (I)	solvant gélatiné	13,45 ± 0,66[a]	4,80 ± 0,38[a]	121 135 130 132
		P < 0,001 test F	P < 0,001 test F	
Témoins matures (II)	hypophyse de Carpe	46,52 ± 5,19	42,02 ± 0,76	564 320 800 500
		P < 0,001 test F	P < 0,001 test F	
Anguilles, traitées en cours de maturation (III)	hypophyse de Carpe + CT	27,87 ± 2,38	13,17 ± 1,15	490 555 534 486
			III ↔ I P < 0,001 test F	
Anguilles traitées après la ponte (IV)	CT	20,0 15,5	10,4 11,2	330 427

R % = surfaces de résorption exprimées en % de la surface totale

a = erreur standard

Ainsi que nous l'avons montré (Lopez et Martelly-Bagot, 1971) l'ostéolyse, chez l'Anguille ♀, est fortement accentuée par la maturité génitale qui stimule l'ostéoclasie dans les mêmes proportions (tableau XIV).

Source : MNHN, Paris

La CT synthétique de Saumon provoque une chute nette du taux des ostéocytes ostéolytiques, (tableau XIV) qu'elle soit injectée avant la ponte lorsque l'ostéolyse est supposée être déjà élevée (tableau XII), ou après ; cependant, dans ce dernier cas, il semble que l'effet soit plus important ainsi que nous l'avons déjà remarqué à propos de l'ostéoclasie.

Cette forme de résorption reste cependant toujours beaucoup plus élevée qu'elle ne l'est chez les témoins immatures.

3°) *Mise en évidence de l'effet de la CT porcine chez la Truite jeune, placée dans différentes conditions expérimentales*

Chez la jeune Truite, l'ostéolyse est nettement plus importante que chez d'autres Téléostéens adultes et que chez la Truite adulte elle-même (tableau I, p. 27). Le niveau d'ostéolyse est comparable, que les animaux soient maintenus en eau de robinet ou bien soumis à un traitement déminéralisant qui stimule la résorption ostéoclastique. L'action de la CT porcine a été expérimentée dans ces différents cas (voir protocole expérimental, p. 41) et étudiée sur coupes non décalcifiées.

TABLEAU XV

Formule ostéocytaire de l'os vertébral de "Salmo gairdnerii" placée dans différentes conditions expérimentales et soumise à un traitement à la CT

Animaux	Ostéocytes dans lacunes lisses	Ostéocytes (ostéolytiques + ostéoplastiques)	Lacunes agrandies vides
(A) Truites témoins eau du robinet n = 5	66,2 ± 4,1 (a)	9,6 ± 1,8	24,2 ± 2,3
		P < 0,001 test F	
(B) Truites eau du robinet + CT n = 5	77,2 ± 1,1	2,0 ± 0,5	20,8 ± 0,96
(C) Truites traitées eau sans Ca + T_4 n = 5	69,6 ± 1,5	7,2 ± 0,3	23,2 ± 1,7
		P < 0,001 test F	
(D) Truites traitées eau sans Ca + T_4 + CT n = 6	73,2 ± 4,7	3,2 ± 0,7	23,6 ± 1,2

a = erreur standard A ⟷ C P > 5 %

Source : MNHN, Paris

La CT porcine provoque une baisse importante du pourcentage des ostéocytes, ostéolytiques + ostéoplastiques (c'est-à-dire présentant un halo de déminéralisation ou situés dans une lacune agrandie) ceci aussi bien chez les Truites maintenues en eau du robinet que chez celles soumises au traitement déminéralisant à base de T_4 (tableau XV). Cette hormone n'a aucune action sur le taux des lacunes vides.

4°) *Discussion et conclusions*

Si nous n'avons pu déterminer l'origine exacte du facteur ou des facteurs provoquant la fonction lysante des ostéocytes, les résultats que nous venons d'exposer nous permettent de constater que des CT d'origine différente peuvent réduire l'ostéolyse chez certains Téléostéens.

Nous avons mis en évidence, dans différents cas, l'action de la CT porcine et de la CT de Saumon sur la résorption ostéoclastique, mais cette action n'est effective que lorsque l'ostéoclasie est fortement stimulée (maturation sexuelle expérimentale ou naturelle chez l'Anguille ♀ et le Congre ♀ ; traitement eau sans Ca + T_4, chez la Truite)elle est sans effet sur des Truites maintenues en eau du robinet (IIeme partie, chapitre II, p. 54). Par contre si la CT synthétique de Saumon réduit chez l'Anguille ♀ une ostéolyse fortement accentuée par la maturation, la CT porcine réduit, chez les Truites jeunes, l'ostéolyse dans tous les cas, même lorsque celles-ci sont simplement maintenues en eau du robinet ; ce résultat peut s'expliquer d'une part, par le fait que le pourcentage d'ostéocytes ostéolytiques est très élevé chez ces animaux et d'autre part, parce qu'il s'agit d'animaux jeunes et que l'influence de l'âge est importante (Hirsch et Munson, 1969) dans l'efficacité de la CT.

En général, chez la Truite recevant de la CT, le taux des ostéocytes agrandis descend en-dessous de ce qu'il est chez les témoins, un tel résultat a déjà été mis en évidence chez l'Homme ostéoporotique traité de la même façon (Bauo, 1969). Chez l'Anguille, la résorption ostéolytique même après traitement à la CT ne retourne pas à son taux normal, ce qui permet d'expliquer qu'une hypercalcémie persiste chez ces animaux, même lorsque la résorption ostéoclastique est pratiquement normale par exemple dans le cas d'injections de CT, après la ponte, (tableau XIV).

Chez les Poissons Téléostéens, il semble bien que l'ostéolyse, comme cela paraît se produire chez les Mammifères, soit, de même que l'ostéoclasie, en partie sous la dépendance de la CT. Expérimentalement l'effet est comparable, que l'hormone exogène injectée soit d'origine mammalienne ou téléostéenne.

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE IV

RÉGULATION DES PHÉNOMÈNES DE MINÉRALISATION ET DÉMINÉRALISATION DE LA SUBSTANCE OSSEUSE INTERCELLULAIRE

La substance minérale de l'os cellulaire de l'Anguille et sans doute aussi des autres Téléostéens, est constituée, comme celle des Mammifères, de phosphate de calcium cristallisé sous forme d'hydroxylapatite et de phosphate de calcium amorphe (Lopez et al., 1970).

Termine et Posner (1967) ont en effet montré, chez le Rat, que le phosphate de calcium amorphe est un des principaux constituants du squelette ; ces auteurs suggèrent que celui-ci serait la première forme minérale déposée au cours de la calcification et que cette fraction amorphe serait le précurseur métaboliquement actif et métastable de l'apatite cristalline. D'ailleurs, cette phase solide, non cristallisée de l'os, peut varier dans différentes conditions (âge, hypophysectomie, etc...). Nous avons donc supposé que dans l'os cellulaire des Poissons, la partie calcique constituée par le phosphate de calcium amorphe (particulièrement abondant chez l'Anguille en comparaison de ce qu'il est chez les Mammifères ; (Lopez et al., 1970) était susceptible de constituer un « pool » labile.

A — Étude des différents agents provoquant une déminéralisation osseuse par halastasie

1°) *Introduction*

La maturation génitale chez l'Anguille ♀ et le Congre ♀ provoque une accélération du catabolisme osseux en favorisant la résorption ostéoclastique et la résorption ostéolytique qui sont les deux modes de déminéralisation les plus courants. Par contre, la T_4 administrée chez la jeune Truite, n'agit que sur l'ostéoclasie. Lors du sacrifice de ces différents Poissons, l'observation, purement subjective d'un ramollissement de l'os chez les animaux matures et chez eux traités à la T_4, nous a permis de supposer que, mis à part l'ostéoclasie et l'ostéolyse modes de résorption provoquant plutôt une diminution de la masse osseuse, la consistance molle observée pouvait être le fait d'une perte par la substance intercellulaire de l'os d'une partie de sa charge calcique. C'est un phénomène que nous nous proposons de mettre en évidence en l'étudiant qualitativement et quantitativement.

2°) *Effet de la maturation sexuelle chez l'Anguille et le Congre femelles*

Cette étude est réalisée sur coupes, non décalcifiées et microradiographiées, d'os vertébral d'Anguilles ♀ mûries expérimentalement (voir protocole expérimental, p. 33), sacrifiées soit au moment de la ponte, soit à différentes étapes de leur maturité génitale et d'os vertébral de Congres ♀ présentant naturellement un fort RGS (voir description, p. 29). Une comparaison dans les deux cas, est établie avec l'os d'animaux immatures du même sexe.

En général, après coloration à la fuchsine basique ou au bleu de Toluidine, la substance intercellulaire de l'os des Anguilles ♀ mûres et des Congres ♀ sexuellement évolués, se colore plus intensément que dans l'os des témoins ; cette observation suggère une certaine décalcification. Pourtant, après examen en contraste de phase et en lumière polarisée, la structure histologique de la matrice organique n'apparaît pas modifiée, il n'y a donc aucune atteinte de celle-ci.

Source : MNHN, Paris

La microradiographie quantitative permet de mesurer, en tous les points de la substance intercellulaire des coupes étudiées, la concentration en substance minérale (apatite + phosphate de calcium amorphe) par unité de volume (ces mesures sont faites sur des échantillons d'os vertébral prélevés en arrière de l'anus et au niveau du foie).

TABLEAU XVI

Anguilles ♀	Concentration en substance minérale g/cm^3 d'os	Congres ♀	Concentration en substance minérale g/cm^3 d'os
♀ Témoins immatures	1,15 ± 0,03 (a) n = 6 P < 0,01	♀ Témoins immatures	1,14 ± 0,23 n = 4 P < 0,01
♀ matures (traitées à l'hypophyse de Carpe)	0,98 ± 0,01 n = 8	♀ évoluées sexuellement	0,91 ± 0,25 n = 6
a = erreur standard		n = nombre d'animaux	

TABLEAU XVI'

Anguilles ♀	Calcémie	% résorption	Ostéolyse %	Concentration en substance minérale g/cm^3 d'os
A - RGS = 10	115	14,3	10,2	1,25
B - RGS = 21	220	29,7	34	1,19
C - RGS = 20	460	33,3	39	1,04
D - ponte spontanée	500	30	37	0,95

Les résultats obtenus (tableaux XVI et XVI') tant sur l'os de l'Anguille que sur celui du Congre, confirment nos présomptions ; la maturation génitale, artificielle ou naturelle, provoque une nette diminution de la concentration en substance minérale. Contrairement aux autre formes de décalcification cette déminéralisation apparaît avant la ponte (tableau XVI'). En ce qui concerne l'Anguille, nous sommes en accord avec les dosages chimiques de calcium effectués sur l'axe vertébral (Fontaine et Martelly-Bagot, résultats inédits). Il se produit donc une véritable décalcification due à un départ d'une partie des sels minéraux fixés sur la matrice organique. Nous avons alors supposé que cette phase calcique échangeable pouvait être formée par le phosphate de calcium amorphe qui, non prisonnier

Source : MNHN, Paris

d'une structure cristalline est sans doute plus facilement disponible que l'apatite avec laquelle il voisine. Une analyse par diffraction des rayons X nous a permis de vérifier cette hypothèse.

A partir d'échantillons de colonne vertébrale prélevés sur une Anguille témoin (RGS = 1,2 calcémie = 120 mg/l) et une Anguille mature (RGS = 38,7, calcémie = 300 mg/l) nous avons évalué quantitativement, par diffraction des RX, selon la méthode décrite par HARPER et POSNER (1966), la fraction de phosphate de calcium amorphe et la fraction d'apatite cristalline constituant le minéral osseux. Cette analyse (LOPEZ et al., 1970) donne les résultats suivants :

TABLEAU XVII

Anguille ♀	Apatite cristallisée g/cm^3	Phosphate de Ca amorphe (g/cm^3)
Témoin	0,32	0,83
Traitée	0,35	0,63

Il n'y a pas de variation marquée de la partie cristalline (tableau XVII) mais une très forte diminution de la phase amorphe. Notons d'ailleurs, que cette méthode nous permet aussi d'évaluer la fraction organique, celle-ci est de 46,38 % chez l'Anguille témoin et de 46,25 % chez l'Anguille traitée : comme nous le laissait supposer l'observation histologique, il n'y a pas altération de la trame organique.

Nous sommes en présence d'un déminéralisation diffuse sans que la structure intrinsèque de l'os soit modifiée, c'est ce processus que nous appelons déminéralisation par halastasie (1ère partie, chapitre III, p. 29).

En outre, fait remarquable dans l'os de toutes les Anguilles ♀ matures et Congres ♀ évolués sexuellement, les cellules bordantes sont très stimulées (fig. 93) avec de gros noyaux très clairs à gros nucléoles qu'il s'agisse des cellules bordantes typiques ou bien des cellules indifférenciées ou cellules ostéoprogénitrices qui entourent la surface osseuse (LOPEZ et MARTELLY-BAGOT, 1971).

Une étude quantitative du degré de minéralisation de l'os a aussi été réalisée chez des Anguilles ♂ matures et immatures. La concentration en substance minérale (g/cm^3) est de 0,98 ± 1,1 chez les témoins et de 1,01 ± 1,5 chez les traitées, aucune différence n'est donc observée entre les deux groupes de 6 animaux ($P > 5$ %)

3°) *Effet de la thyroxine* (T_4) *chez la jeune Truite*

De jeunes Truites sont maintenues en eau du robinet, d'autres sont placées dans une eau privée de calcium et additionnée de T_4 (voir protocole expérimental, IIème partie, chapitre I, p. 41). Cette expérience est basée sur le fait, qu'une déminéralisation osseuse (mesurée par dosage chimique), avec abaissement de la calcémie, a déjà été obtenue chez des Truites mises à jeun dans une eau privée de calcium et que cette déminéralisation est fortement accentuée par l'adjonction de T_4 (CHARTIER-BARADUC, résultats inédits.) Un dosage chimique ne permet pas de définir l'origine d'une décalcification ; par contre, l'observation histologique de coupes non décalcifiées nous a permis de montrer, que l'os de Truites maintenues dans les conditions déminéralisantes précédemment décrites, présente une forte résorption ostéoclastique, mais aucune modification de sa structure de base n'a été décelée. Nous avons cependant observé chez les animaux traités, une plus forte colorabilité de la substance intercellulaire. Ces résultats sont complétés par une étude quantitative, de la concentration en substance minérale du tissu intercellulaire, réalisée dans les mêmes conditions que celles définies pour l'Anguille ♀ et le Congre ♀ mature.

Nous pouvons constater (tableau XVIII) une nette déminéralisation de la trame organique sans que celle-ci soit modifiée ; il s'agit là, ainsi que nous l'avons observé chez le Congre et l'Anguille ♀ matures d'une décalcification par halastasie. Comme nous l'avions déjà remarqué chez ces animaux, l'os

Source : MNHN, Paris

des Truites traitées à la T_4 présente des cellules ostéoprogénitrices et des cellules bordantes nettement stimulées (fig. 97).

4°) *Discussion*

Outre les deux modes de décalcification par ostéoclasie et ostéolyse, nous pouvons chez certains Poissons Téléostéens, pris dans des conditions bien précises, enregistrer une déminéralisation diffuse de la substance intercellulaire sans que celle-ci soit lésée ; c'est le processus de déminéralisation par halastasie. Chez l'Anguille ♀ mature cette décalcification survient tardivement par rapport à l'ostéoclasie et l'ostéolyse, processus de résorption se manifestant dès le début de l'évolution sexuelle. Cette observation permet, en partie, d'expliquer que la calcémie, chez ces animaux, augmente surtout dans les semaines qui précèdent la ponte (Fontaine et Martelly-Bagot, résultats inédits).

TABLEAU XVIII

Animaux	Concentration en substance minérale dans l'os vertébral (g/cm^3)
Truites témoins eau du robinet n = 5	1,37 ± 0,01 (a)
	P < 0,001 (test t)
Truites eau privée de Ca + T_4 n = 5	1,08 ± 0,03

a = erreur standard n = nombre d'animaux

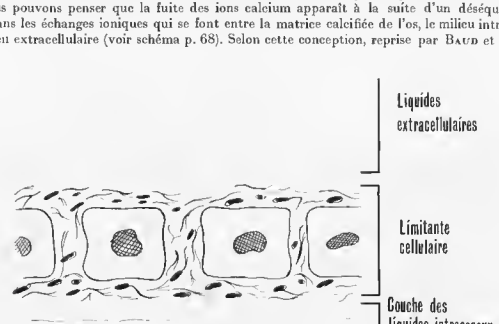
La déminéralisation par halastasie est provoquée par la maturation génitale chez certains Téléostéens femelles, et par l'action de la T_4 chez la Truite. Les hormones sexuelles femelles peuvent favoriser ce mode de décalcification soit directement, au niveau de l'os ,soit en agissant sur l'ensemble du métabolisme calcique qui est alors fortement perturbé. L'injection d'œstrone, chez le Cyprin (2 animaux), ne provoque une déminéralisation diffuse que dans un cas ; ce résultat, ne portant malheureusement que sur un animal, doit être approfondi en analysant l'influence du sexe. La T_4 en déclenchant une hypocalcémie chez des Truites maintenues en eau sans calcium, perturbe probablement les échanges d'ions qui se font entre la matrice calcifiée et le milieu extracellulaire (voir schéma p. 68) favorisant ainsi un départ d'une partie du phosphate de calcium instable.

Une telle baisse du degré de calcification de la substance intercellulaire a aussi été constatée, chez l'Homme atteint d'ostéoporose post-traumatique, par Meyer (1961) et dans des cas d'ostéose thyroïdienne, dix fois plus fréquents chez la femme que chez l'homme (Benichou et Mery, 1971, d'après une mise au point récente de Ryckewaert). Il est possible aussi que l'hypominéralisation de l'os, observée dans certains cas d'ostéoporose humaine par Jowsey (1964) et par Baud et al. (1969) soit également le résultat d'un processus de déminéralisation.

Source : MNHN, Paris

La déminéralisation par halastasie est due au fait que la substance osseuse est — pour une part — instable ; dans le cas des Anguilles matures, nous avons déjà signalé que cette phase labile est constituée par le phosphate de calcium amorphe qui forme, avec l'apatite cristalline, le minéral osseux. C'est sans doute aussi le cas, chez les autres Téléostéens, dans l'os desquels nous avons mis en évidence le même phénomène.

En général la baisse du taux de minéralisation de l'os est interprétée comme étant le résultat de changements physicochimiques survenant dans l'environnement osseux (Bohatirchuk, 1966). Plusieurs travaux (Goldhaber, 1963 ; Jenkins et Dowes, 1963) montrent une relation existant entre l'activité du milieu environnant l'os et l'effet de chélation du calcium. Si l'on se réfère au système à trois compartiments (voir schéma p. 68) proposé par Nichols (1963) pour représenter l'os des Mammifères, nous pouvons penser que la fuite des ions calcium apparaît à la suite d'un déséquilibre survenant dans les échanges ioniques qui se font entre la matrice calcifiée de l'os, le milieu intracellulaire et le milieu extracellulaire (voir schéma p. 68). Selon cette conception, reprise par Baud et al. (1969),



Représentation schématique du tissu osseux
Reproduit d'après NICHOLS G. Jr, Mechanisms of hard tissue destruction, 1963 — (voir bibliographie)

ce départ des sels minéraux se ferait alors sous le contrôle de l'activité métabolique d'une limitante cellulaire constituée par les ostéocytes et les cellules bordantes. Nous avons remarqué que dans les cas de déminéralisation par halastasie les cellules bordantes sont en général très stimulées, observation plaidant en faveur de la dernière hypothèse émise.

Source : MNHN, Paris

B — Effet des calcitonines sur la déminéralisation halastasique

1°) *Introduction*

Au cours de ce travail, il a été mis en évidence par analogie avec ce qui est démontré chez les Mammifères, comment et dans quelles conditions la CT porcine ou de Saumon agit directement sur l'os cellulaire de certains Poissons Téléostéens en réduisant la résorption ostéoclastique et la résorption ostéolytique. Cette hormone est, il le semble, aussi capable de modifier, au niveau de la cellule osseuse mammalienne, le transport actif du calcium par l'intermédiaire de l'AMP cyclique comme second messager (Mac Intyre, 1969) ; nous étions donc en mesure de nous demander si la CT a la capacité de prévenir ou de rétablir la déminéralisation par halastasie (probablement sous contrôle cellulaire) dans l'os des Poissons.

2°) *Action de la CT synthétique de Saumon chez l'Anguille femelle mûrie expérimentalement*

L'analyse du tissu osseux par microradiographie quantitative a été effectuée sur les mêmes échantillons que ceux ayant servi à l'étude de l'action de la CT sur l'ostéoclasie et l'ostéolyse (voir protocole expérimental, IIème partie, chapitre II, p. 50). Des injections de CT synthétique de Saumon ont été faites sur des Anguilles ♀, en cours de maturation, recevant un traitement à l'extrait hypophysaire de Carpe et sur des Anguilles après la ponte, le traitement induisant la maturation étant terminé.

TABLEAU XIX

Anguilles ♀	Traitement	Concentration en substance minérale g/cm³ (apatite + phosphate de Ca amorphe)
Témoins non matures n = 4 (1)	Solvant gélatiné	1,250 ± 0,036
		P < 0,001 test t
Animaux traités matures n = 4 (2)	- Extrait hypophysaire de Carpe	0,985 ± 0,025
		P < 0,01
n = 4 (3)	- Hypophyse de Carpe + CT	1,180 ± 0,027
n = 2 (4)	- CT après maturation	0,99 0,81
		1 ⟷ 3 P > 5 %
Anguilles matures	ablation des corpuscules de Stannius + hypophyse de Carpe	1,15 1,19

Source : MNHN, Paris

Les mesures histophotométriques sont réalisées sur des coupes de vertèbres caudales (prélevées 2 cm en arrière de l'anus) et sur des coupes de vertèbres lombaires (prélevées au niveau du foie).

Nous remarquons, en accord avec une précédente expérience destinée à mettre en évidence le phénomène de déminéralisation par halastasie (p. 65), que la maturation sexuelle chez l'Anguille ♀ provoque une forte baisse de la concentration en substance minérale dans l'os (tableau XIX). Le tissu osseux des Anguilles ♀ recevant des injections de CT en cours de maturation présente une minéralisation tout à fait comparable à celle de l'os des Anguilles ♀ du même lot, non soumises à maturation, mais maintenues dans les mêmes conditions expérimentales (tableau XIX). Par contre, le traitement à la CT chez les Anguilles après la ponte, s'il réduit très nettement ostéoclasie et ostéolyse, n'est pas en mesure de provoquer, tout au moins selon le protocole employé, une recalcification du tissu osseux (tableau XIX). Notons aussi que l'ablation des corpuscules de Stannius, chez des Anguilles ♀ soumises à maturation et dont le C.U.B. est fortement stimulé, empêche la déminéralisation par halastasie (Lopez et al., 1971).

3°) *Action de la CT porcine chez la jeune Truite traitée à la* T_4

Nous avons mis en évidence une forte résorption ostéoclastique chez des Truites maintenues en eau sans Ca et traitées à la T_4, celle-ci est réduite après traitement à la CT ; une étude quantitative de la concentration en substance minérale du tissu osseux a été entreprise parallèlement (voir protocole expérimental, II[ème] partie, chapitre II, p. 54). Les mesures sont faites dans les mêmes conditions que celles exposées dans le précédent paragraphe, à propos de l'Anguille.

La CT porcine agit très nettement au niveau de l'os des Truites, placées en conditions de déminéralisation (groupe II, D, tableau XX) ; si elle réduit la résorption ostéoclastique (II[ème] partie, chapitre II, p. 54) elle prévient aussi la déminéralisation par halastasie : chez ces animaux, le taux d'apatite + phosphate de Ca amorphe/cm³ n'est pas différent de celui de l'os des Truites séjournant en eau du robinet (tableau XX). Par contre cette hormone ne modifie pas la concentration en substance minérale des tissus osseux des Truites non soumises au traitement déminéralisant (groupe I, B).

Ces résultats sont probablement à rapprocher du fait (déjà signalé) que nous n'avons observé dans le lot D, recevant des injections de CT, aucune mortalité alors que celle-ci était très importante (47 %) chez les Truites soumises au seul régime eau privée de Ca + T_4 (lot C).

TABLEAU XX

Truites	Groupe I eau du robinet		Groupe II eau sans Ca + T_4	
	A	B (CT)	C	D (CT)
Concentration en substance minérale dans l'os vertébral (g/cm³)	1,372±0,019[(a)]	1,356±0,350	1,084±0,038	1,398±0,023
	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5

n = nombre d'animaux a = erreur standard

A ⟷ B P > 5 % C ⟷ D P < 0,001

A ⟷ C P < 0,001 A ⟷ D P > 5 %

Source : MNHN, Paris

4°) *Discussion*

La CT de Saumon, chez l'Anguille, peut prévenir une déminéralisation mais ne semble pas capable de provoquer une reminéralisation lorsque le départ des sels de calcium par halastasie est très accentué, comme c'est le fait chez les Anguilles femelles au moment de la ponte. Pourtant, Ewald et Tachdjian (1967) ont mis en évidence une élévation de la teneur en calcium des humérus fracturés chez des Rats traités à la CT et Baud (1969 a-b) observe une augmentation du degré de minéralisation de la substance osseuse, chez des ostéoporotiques, après un traitement de longue durée (4 semaines) avec la même hormone. Il se peut, dans le cadre de notre expérience, que les doses injectées soient trop faibles ou bien le traitement trop court (2 semaines), surtout si l'on tient compte du fait que le système lacuno-canaliculaire de l'os des Poissons, voie de circulation des ions, est plus réduit que chez les Mammifères.

Chez la Truite, en dépit des résultats négatifs obtenus sur la calcémie (tableau VI), la CT porcine empêche une déminéralisation par halastasie qui peut être importante chez les Poissons privés de Ca et injectés de T_4. Il a déjà été montré, chez les Mammifères, qu'un traitement de longue durée à la CT, sur des animaux soumis à un régime pauvre en calcium, peut prévenir une atrophie osseuse chez le Rat et le Chat (Fujita et al., 1968) ou bien provoquer, chez le Chien, une fixation accrue de ^{45}Ca dans l'os (Cancceda et Angioi, 1969).

Les résultats obtenus, tant sur l'Anguille avec la CT de Saumon que sur la Truite avec la CT porcine suggèrent que, chez les Poissons, à os cellulaire tout au moins, ce tissu est bien l'un des organes cibles de la CT. On peut d'après l'hypothèse de Borle émise à propos du rein des Mammifères et reprise par Mac Intyre (1969) et Rasmussen et al. (1971), en ce qui concerne l'os, supposer que cette hormone agit au niveau de la pompe à calcium des cellules bordantes, influençant ainsi la sortie de cet ion ; supposition tout à fait en accord avec la suggestion proposée par Baud (1969 a) selon laquelle la CT stimulerait l'activité métabolique des cellules bordantes et des ostéocytes, permettant ainsi, grâce à l'action de la limitante cellulaire, le maintien du degré de minéralisation de la matrice osseuse interlacunaire.

C — Mise en évidence d'un accroissement du taux de minéralisation de la substance intercellulaire après ablation des corpuscules de Stannius

1°) *Introduction*

L'ablation des corpuscules de Stannius, chez l'Anguille maintenue en eau douce, provoque une augmentation de la calcémie (Fontaine, 1964, 1966) qui s'accompagne d'une rétention de l'ion calcium dans le muscle et le cerveau ; Fontaine et Poncet (1969) ont en effet constaté, sur des Anguilles ♂ argentées, que pendant les cinq premières semaines suivant l'opération les rapports $Ca^{++}/Na^{+} + K^{+}$ du cerveau et du muscle s'élèvent considérablement et progressivement. L'étude du tissu osseux, quatre et cinq semaines après l'opération, a permis de mettre en évidence une réduction du nombre des ostéoclastes et par là même de la résorption, sans changement toutefois du taux d'ostéolyse ; ces modifications s'accompagnent-elles de variations du degré de minéralisation de la substance interlacunaire ?

2°) *Effet sur le degré de minéralisation de la substance intercellulaire*

Les mesures microradiographiques sont effectuées sur des échantillons prélevés sur trois lots d'Anguilles : des pimpeneaux opérés témoins, des pimpeneaux privés de corpuscules de Stannius, des pimpeneaux sans corpuscules de Stannius réinjectés d'extrait de ces mêmes glandes (voir protocole expérimental, 1[ère] partie, chapitre II, p. 45).

A l'observation, en lumière transmise, des coupes d'os provenant d'animaux privés de corpuscules de Stannius, et des microradiographies correspondantes, nous ne pouvons mettre en évidence aucune différence d'opacité aux rayons X. Mais l'analyse histophotométrique des radiographies permet de constater que la teneur en calcium de la substance osseuse intercellulaire s'accroît de 13,9 % (Lopez,

Source : MNHN, Paris

1970 b), résultats concordant parfaitement avec ceux obtenus après dosage chimique de l'os de la colonne vertébrale d'animaux pris dans les mêmes conditions (Fontaine et al., 1970).

TABLEAU XXI

Pimpeneaux (Anguilles ♂)	Nombre d'animaux	Calcémie mg/l	Taux de minéralisation de l'os vertébral en cg de substance minérale /cc d'os
Témoins opérés	8	119,4 ± 6,3 (a) P < 0,001	92,42 ± 1,39 P < 0,01
♂ sans corpuscules de Stannius	8	273,3 ± 22,6 P < 0,02	105,28 ± 1,30 P > 5 %
♂ sans corpuscules de Stannius + extrait de corpuscules de Stannius	8	201,2 ± 13,2	106,25 ± 4,02
a = erreur standard			

Des mesures ont été effectuées sur des prélèvements faits en différents points de l'axe vertébral (chez un animal témoin et un traité), le degré de minéralisation ne varie pas pour les différents niveaux d'une même colonne vertébrale. Toutes les mesures sont ensuite faites sur des prélèvements effectués 2 cm en arrière de l'anus.

Aucune diminution du taux de minéralisation n'est obtenue après réinjection d'extrait corpusculaire (tableau XXI). Notons que les cellules bordantes, dans le cas des animaux sans corpuscules de Stannius (fig. 94) nous apparaissent avec un noyau clair et renflé présentant un gros nucléole bien distinct, alors que chez les animaux témoins, ces noyaux sont, dans la grande majorité des cas, très aplatis et plus fortement basophiles.

3°) *Discussion*

L'hypercalcémie induite par la suppression des corpuscules de Stannius entraîne une élévation du taux calcique dans bon nombre de tissus et plus particulièrement dans le tissu osseux. Il a été montré (Lopez et al. 1968) que le corps ultimobranchial est alors stimulé, activation probablement provoquée par l'élévation de la concentration de l'ion calcium dans le sang. L'augmentation du degré de minéralisation observée en même temps qu'une diminution de la résorption ostéoclastique peut être causée : soit directement par la suppression des corpuscules de Stannius, soit à notre avis plus indirectement par l'action d'une CT sécrétée par le C.U.B. ; en effet il est reconnu que si la CT mammalienne provoque (chez les Mammifères, in vivo) la diminution du nombre des ostéoclastes (Foster et al., 1967) elle peut aussi augmenter le taux de minéralisation osseuse (Baud et al., 1969 a.b). On peut bien entendu supposer aussi qu'il s'agit de l'action conjuguée de ces deux glandes, celles-ci influenceraient les échanges ioniques qui se font entre la matrice calcifiée de l'os et les liquides extracellulaires qui le baignent (Nichols,

Source : MNHN, Paris

1963). Ces échanges se font probablement, ainsi que nous l'avions supposé à propos de la déminéralisation halastasique, sous le contrôle de l'activité métabolique d'une limitante cellulaire (Nichols, 1963) ce qui pourrait expliquer ici l'activation nucléaire des cellules bordantes que nous avons observée dans l'os des pimpeneaux opérés.

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE V

ÉTUDE DE QUELQUES VARIATIONS DU PHÉNOMÈNE D'APPOSITION PROVOQUÉES EXPÉRIMENTALEMENT

1°) *Introduction*

Au cours de ce travail, nous avons étudié principalement les variations des phénomènes de résorption. Nous pouvons remarquer à la lecture de nombreux travaux d'histologie paraissant actuellement sur l'os des Mammifères, qu'il en est le plus souvent ainsi. Cela tient vraisemblablement au fait que les processus de destruction de l'os donnent des images caractéristiques facilement décelables, mais que, au contraire, les phénomènes d'apposition, tant ostéoblastiques qu'ostéoplastiques, sont beaucoup plus discrets. Le dépôt récent d'os nouveau est difficile à mettre en évidence, aussi bien sur coupes que sur radiographies ; par exemple, en ce qui concerne les premières, des ostéoblastes actifs peuvent signaler seulement un état de présynthèse, un liseré préosseux coloré peut correspondre à une surface synthétisée antérieurement et en cours de minéralisation complémentaire. Les secondes sont faites généralement à partir de coupes relativement épaisses (40 à 50 μ), les surfaces osseuses très souvent coupées en biais y apparaissent floues, image gênante pour l'identification des « smooth surfaces » (Jowsey et al., 1965) caractérisant l'apposition. De plus, chez les Poissons, le marquage par la tétracycline n'est pas absolument spécifique de l'accrétion osseuse.

Dans certains cas, nous n'avons pu que soupçonner ce phénomène, mais au cours de certaines expériences, la stimulation de l'apposition nous est apparue suffisamment importante pour que nous puissions nettement la mettre en évidence.

2°) *Stimulation présumée de l'apposition, après ablation des corpuscules de Stannius chez l'Anguille*

a) *Protocole expérimental*

Cette étude est faite sur des échantillons prélevés sur deux lots de pimpeneaux (Anguilles σ), le premier constitué d'animaux opérés témoins, le second d'animaux privés de corpuscules de Stannius (protocole opératoire, II[ème] partie, chapitre II, p. 54).

L'évaluation quantitative des surfaces en apposition est effectuée sur des échantillons de vertèbres caudales toutes prélevées 2 cm en arrière de l'anus.

b) *Résultats*

Si la résorption ostéoclastique est fortement réduite (la différence existant entre témoins et opérés étant statistiquement significative) il n'en est pas de même du processus d'apposition (tableau XXII). Nous enregistrons apparemment une élévation du taux des surfaces en cours d'apposition ostéoblastique, mais celle-ci n'est pas statistiquement significative.

Compte-tenu des causes d'erreur nombreuses (en partie signalées plus haut) pouvant intervenir au cours des mesures, nous tenons à considérer ce résultat comme indicatif d'une stimulation de la formation osseuse après ablation des corpuscules de Stannius. D'ailleurs les ostéoblastes sont toujours dans ce cas fortement stimulés. Nous avons de plus observé, après marquage à la Tétracycline, que les lacunes ostéocytaires présentant un liseré fluorescent, sont alors plus nombreuses et que la fluorescence est intense.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU XXII

Pimpeneaux (Anguilles ♂)	Nombre d'animaux	Surfaces en apposition en % de la surface totale	Surfaces en résorption en % de la surface totale
Témoins opérés	8	6,5 ± 0,7 (a)	14,3 ± 1,8
		$p > 5\ \%$	$0,01 < p < 0,05$
Pimpeneaux privés de corpuscules de Stannius	8	8,9 ± 0,8	8,9 ± 0,8
a = erreur standard			

3°) *Modifications provoquées, chez la Truite après traitement à la T_4 et chez le Cyprin après injection d'œstrone*

Chez la Truite le corps vertébral est formé d'un manchon d'os compact et de celui-ci partent des trabécules osseux reliés par des ponts plus ou moins ossifiés (fig. 96). Nous avons remarqué que chaque trabécule osseux est coiffé d'un demi-cercle d'ostéoblastes (fig. 95) ayant en général l'aspect de cellules actives, noyau renflé et clair, nucléole apparent et volumineux. Cette région semble être, en permanence, chez les animaux témoins (voir protocole expérimental, IIème partie, chapitre f, p. 41) le siège d'une certaine ostéosynthèse (fig. 93) ; chez ceux traités à la T_4 et maintenus en eau sans calcium, chaque rayon osseux présente sous sa coiffe d'ostéoblastes très actifs, un liseré épais de substance préosseuse colorée par la fuchsine basique donc incomplètement ossifiée (fig. 96- 97-98).

Le long des surfaces des arcs vertébraux l'apposition ostéoblastique semble être aussi nettement stimulée, nous observons des liserés préosseux étendus et plus apparents que chez les témoins.

Chez les Cyprins injectés d'œstrone (voir protocole expérimental, IIème partie, chapitre f, p. 39) les surfaces des arcs vertébraux sont bordées, par endroits, d'épaisses couches d'une substance osseuse faiblement minéralisée (fig. 99-100) bordée d'ostéoblastes actifs. L'apposition ostéoblastique semble nettement stimulée mais préférentiellement sur les arcs vertébraux plutôt qu'au niveau du corps vertébral ; les différentes couches apposées sont visibles car limitées par la lignée d'ostéoblastes qui se sont rapidement trouvés enchâssés (fig. 67). Ces surfaces peu minéralisées sont particulièrement attaquées par une résorption ostéoclastique accrue (fig. 65-67-68-99-100).

4°) *Discussion*

L'ablation des corpuscules de Stannius modifie le métabolisme osseux, elle réduit la résorption ostéoclastique, provoque une élévation du taux de minéralisation de la substance intercellulaire et de l'accrétion osseuse en général puisque l'apposition ostéoblastique et ostéoplastique semble plus élevée. Ces observations nous permettent de supposer que ces formations glandulaires tendraient à réguler soit directement, ou indirectement par leur action hypocalcémiante (Fontaine, 1967) la fixation du calcium dans le tissu osseux en freinant une hyperminéralisation. L'hypothèse de Chan (1971) selon laquelle les corpuscules de Stannius peuvent favoriser une fixation du calcium dans l'os est en désaccord avec les résultats que nous avons obtenus ; cette supposition ne s'étaye d'ailleurs sur aucune étude du compartiment osseux.

La T_4, chez les Mammifères, stimule nettement la résorption mais son effet sur l'apposition est souvent contradictoire ; pourtant il est actuellement admis qu'elle stimule à la fois les ostéoblastes et les ostéoclastes, ces derniers étant cependant plus influencés que les premiers (Benichou et Mery, 1971). Un hyperthyroïdisme peut, chez l'homme, être suivi d'une augmentation de l'accrétion osseuse (Lai-

Source : MNHN, Paris

TINEN, 1967). L'os de la Truite réagit donc, sous l'effet de la T_4, en montrant une apposition et une résorption accrues, comme le fait l'os des Mammifères selon les doses d'hormone exogène ou endogène auquel il est soumis. BUSER (1950) a observé après bloquage de la thyroïde, chez deux Téléostéens, une inhibition de la régénération ; la thyroïde favoriserait donc la formation de substance osseuse. En ce qui concerne l'apposition, si nous tenons compte du résultat obtenu par LELOUP et LELOUP-HATEY (1964) mettant en évidence une activation de la thyroïde chez des Anguilles privées de corpuscules de Stannius, la stimulation de l'apposition dans l'os des pimpeneaux, pris dans les mêmes conditions, peut donc s'expliquer ; l'effet de la T_4 sur la stimulation de la résorption serait contrebalancé par l'action de la CT sécrétée par le C.U.B. qui est dans ce cas stimulé (LOPEZ et al., 1968).

Il existe, chez les Oiseaux et les Mammifères de grandes différences spécifiques de réactivité du tissu osseux aux œstrogènes (BAUD et DUPONT 1964, revue). La réponse œstrogénique est très marquée chez les Oiseaux, mais plus forte chez les Pigeons et les Canards que chez les Poulets et les Moineaux ; parmi les Mammifères les résultats sont différents chez la Souris et le Rat. Les œstrogènes, chez les Vertébrés supérieurs, favorisent surtout l'ostéosynthèse mais aussi, dans certains cas, l'ostéoporose (SILBERBERG et SILBERBERG, 1969), la résorption aurait alors tendance à réduire l'excès d'os apposé et ensuite elle se ralentirait. Ces résultats concordent, en de nombreux points, avec nos observations. Chez le Cyprin, l'effet de l'œstrone est donc, en grande partie, comparable à ce qu'il est dans certains cas chez les homéothermes, mais nous observons cependant une hypominéralisation des régions nouvellement formées, sans doute due à l'accélération du processus d'apposition. L'activation de l'ostéoclasie, par cette hormone, semble être un phénomène particulièrement marqué chez les Poissons ; il mérite d'être approfondi par des expériences complémentaires que nous nous proposons de réaliser ultérieurement.

Source : MNHN, Paris

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

L'étude de l'os cellulaire chez quatre espèces de Poissons Téléostéens (Anguille, Congre, Truite arc-en-ciel, Cyprin) nous a confrontée à deux problèmes importants :

— L'os vrai des Poissons est-il un tissu comparable dans son organisation et dans son mode de fonctionnement à l'os des Vertébrés supérieurs ?

— En l'absence de parathyroïdes, le mode de fonctionnement de cet os est-il sous contrôle endocrinien, et si une régulation hormonale existe, favorise-t-elle l'implication étroite du squelette des Poissons dans l'homéostasie calcique ?

Les résultats obtenus nous permettent de répondre en partie à ces questions.

1 — L'os cellulaire des Poissons comprend, outre une trame organique calcifiée, les trois catégories de cellules caractérisant l'os des Vertébrés supérieurs : ostéoblastes, ostéocytes, ostéoclastes. Chaque type cellulaire présente une morphologie et une position caractéristiques en rapport avec sa fonction. Ces cellules sont toutes impliquées, à l'un ou l'autre moment de leur existence, dans deux mécanismes essentiels, l'apposition et la résorption. Ces deux processus, tout en ayant une importance morphologique, assurent la vie de l'os en le renouvelant.

— Les ostéoblastes ont le rôle primordial de synthétiser la trame organique qui permet la formation d'os nouveau, ils contribuent aussi probablement au phénomène de calcification de cette matrice. Mais, caractère propre aux Poissons, dans certains cas, ils acquièrent une fonction destructrice et résorbent l'os qu'ils ont formé.

— Les ostéocytes dérivent des ostéoblastes ; cellules osseuses proprement dites, ils participent à la vie de l'os grâce à leur double fonction anabolisante (ostéoplastique) et catabolisante (ostéolytique) et permettent par leurs ramifications canaliculaires la circulation de certains ions au sein de la matrice calcifiée. Ostéocytes et cellules bordantes (cellules juxtaosseuses indifférenciées), en s'interposant entre les capillaires et les liquides des espaces interstitiels de la matrice osseuse, contrôlent probablement, en partie, par leur activité métabolique, les échanges ioniques entre l'os et le sang.

— Les ostéoclastes ont un rôle unique, celui de détruire l'os.

Le remaniement osseux est le résultat du jeu de l'apposition ostéoblastique et de la résorption ostéoclastique ; à ces processus dominants s'ajoute le remodèlement ostéoplastique, plus discret, œuvre des ostéocytes. Dans l'os des Poissons nous observons, par ailleurs, outre l'ostéoclasie et l'ostéolyse, un troisième mode de déminéralisation, peu fréquent dans l'os des Mammifères, ou tout au moins de plus faible amplitude : il consiste en une déminéralisation diffuse de la substance intercellulaire sans que la matrice organique soit lésée, ni de ce fait la structure de l'os modifiée. Nous avons choisi, afin de définir ce phénomène, le terme de déminéralisation par halastasie, mot d'origine grecque signifiant instabilité des sels. Le phénomène inverse de fixation accrue de calcium sur la trame organique peut aussi se produire.

En mettant en évidence dans l'os cellulaire des Téléostéens une organisation en de nombreux points comparable à celle du tissu osseux des Mammifères (mise à part la non organisation en systèmes de Havers), en y observant les phénomènes d'ostéoclasie et d'ostéolyse considérés jusqu'ici comme étant l'apanage du tissu osseux des Mammifères, en montrant la mobilité d'une partie des sels de calcium, nous suggérons que ce tissu n'est sans doute pas uniquement un matériau servant à élaborer une structure de soutien, mais un ensemble vivant en perpétuel remaniement. Il semble erroné, aujourd'-

Source : MNHN, Paris

hui, d'affirmer que le tissu osseux haversien dense, par exemple celui de l'homme, constitue le « stade évolutif » le plus élevé de l'organisation du tissu osseux ; on ne peut donc, de ce fait, parler de tissu osseux « primitif » ou « évolué » en tant que tel, mais on peut penser que l'arrangement relatif de ses constituants reflète et exprime les grandes tendances adaptatives réalisées par les diverses lignées de Vertébrés.

II — Le problème de la régulation hormonale du tissu osseux cellulaire des Poissons Téléostéens est complexe en raison de l'absence de glandes parathyroïdes et des conditions de vie aquatique (milieu plus ou moins riche en calcium) de ces animaux. D'après les différents résultats exposés dans ce mémoire nous allons tenter de dégager les grandes lignes de ce contrôle endocrinien.

1°) Les actions hormonales favorisant le catabolisme osseux sont nombreuses et malgré les observations positives faites au cours de ce travail, encore mal déterminées. Certaines ont été mises en évidence de la façon la plus nette au cours de la maturation génitale (expérimentale ou naturelle) chez certains Téléostéens femelles (Anguille et Congre) ; celle-ci stimule les trois modes de résorption : l'ostéoclasie probablement due à l'effet des œstrogènes puisque activée chez le Cyprin par injection d'œstrone, l'ostéolyse et l'halastasie pour lesquelles une action des œstrogènes et de la cortisone peut être supposée.

Par ailleurs, la thyroxine (T_4) accentue la résorption ostéoclastique et halastasique chez la Truite placée dans certaines conditions favorisant la déminéralisation.

En général, une forte érosion osseuse accompagnée d'une déminéralisation diffuse entraîne une hypercalcémie, sauf dans le cas de l'action de la T_4 chez la Truite, sans doute parce que celle-ci est privée (dans les conditions de l'expérience) de tout apport de calcium exogène.

2°) L'ablation de l'hypophyse provoque une hypocalcémie chez l'Anguille (Fontaine, 1956), de plus cette glande est considérée par Pang (1971) comme étant hypercalcémiante chez les Téléostéens. Les résultats résumés précédemment (1°) nous permettent d'apporter quelques éclaircissements sur ce mécanisme : l'hypophyse stimule probablement la décalcification osseuse (ostéoclasie, ostéolyse, halastasie) par l'intermédiaire de l'action des gonadotrophines sur les glandes génitales, en l'occurence des ovaires, entraînant une sécrétion d'œstrogènes (l'effet de ces hormones n'étant sensible avec élévation de la calcémie, que lorsque le taux des androgènes est faible) et aussi, sans doute par l'intermédiaire de la TSH provoquant la sécrétion de T_4 par la thyroïde.

3°) Une hypercalcémie induite (Anguille et Congre femelles matures) par une très forte résorption osseuse entraîne une stimulation du corps ultimobranchial (C.U.B.), observation suggérant l'effet probable d'une calcitonine (CT) endogène tendant à réduire le catabolisme osseux. Cette hypothèse est vérifiée expérimentalement par le fait que les calcitonines de Porc et de Saumon freinent la résorption ostéoclastique, la résorption ostéolytique et préviennent l'halastasie chez l'Anguille et la Truite. Le catabolisme osseux de ces Poissons ayant été accentué respectivement par la maturation et l'injection de T_4. La CT de Saumon abaisse l'hypercalcémie dans certains cas.

4°) L'ablation des corpuscules de Stannius (glandes propres aux Poissons Téléostéens) entraîne une hypercalcémie avec stimulation du C.U.B, suivie d'une réduction de la résorption ostéoclastique et d'une fixation accrue du calcium sur l'os.

L'injection d'extrait de corpuscules de Stannius chez des animaux privés de ces mêmes glandes n'a, dans les conditions de l'expérience, aucun effet sur l'os.

Les corpuscules de Stannius, en régulant les entrées de calcium à partir du milieu extérieur (Fontaine, 1964, 1967) et en influençant l'excrétion rénale de cet ion (Chester Jones et al., 1967) modulent la calcémie. Le C.U.B. stimulé par l'élévation du taux de calcium sanguin se trouve donc en partie sous la dépendance de ces glandes, et réciproquement puisque l'ablation du C.U.B. entraîne chez l'Anguille une dégénérescence des corpuscules de Stannius (Chan, 1971).

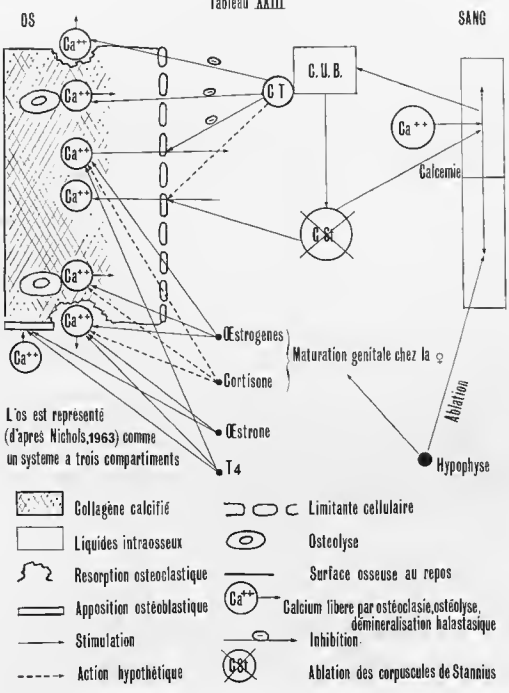
5°) Que se soit lors de la déminéralisation halastasique provoquée par la maturation (Anguille, Congre) ou bien lors d'une minéralisation accrue de la substance intercellulaire (Anguille), les cellules bordantes sont toujours très stimulées. Nous supposons, en considérant l'os selon le schéma de Nichols (1963) comme un système à trois compartiments (schéma page 68), que les fluctuations du degré de minéralisation de la trame organique sont sous la dépendance de l'activité d'une limitante cellulaire (cellules bordantes + ostéocytes). La maturation sexuelle et la T_4 entraînent, en perturbant l'ensemble du métabolisme calcique, un déséquilibre dans les transferts d'ions qui se font entre la matrice calcifiée, le milieu

Source : MNHN, Paris

intracellulaire et le milieu extracellulaire. Elles favorisent ainsi la fuite des ions calcium et la déminéralisation de la matrice calcifiée, phénomène probablement contrôlé par l'activité des cellules bordantes et des ostéocytes.

Nous émettons en outre l'hypothèse d'une action conjuguée des corpuscules de Stannius et du C.U.B au niveau de la « pompe à calcium » de ces cellules, les premiers modérant la pénétration de l'ion Ca^{++} (ainsi qu'ils semblent le faire à bien d'autres niveaux), le second, par l'intermédiaire de la CT, influençant sa sortie (Mac Intyre, 1969 ; Rasmussen et al., 1971). Ces deux glandes tendraient donc

Tableau XXIII



Source : MNHN, Paris

à maintenir au moyen d'un équilibre dynamique une certaine concentration calcique dans la cellule ce qui conditionnerait en partie l'activité métabolique de celle-ci. Cette hypothèse permet d'expliquer, d'une part que l'ablation des corpuscules de Stannius provoque une minéralisation accrue de la substance intercellulaire ou bien freine la déminéralisation par halastasie pendant la maturation génitale de l'Anguille, d'autre part, que la CT prévienne l'halastasie.

6º) L'apposition semble être favorisée à la fois par la T_4 et par l'œstrone, hormones jouant un double jeu puisqu'elles stimulent aussi la résorption, en fait elles accentuent le turnover osseux. L'accrétion est freinée par les corpuscules de Stannius qui semblent prévenir une hypercalcification dans l'os ainsi qu'ils le font dans la plupart des autres tissus (Fontaine et al., 1968).

Il existe deux grandes tendances actuelles dans l'interprétation de la régulation du métabolisme calcique chez les Téléostéens. L'une insiste sur les interactions existant entre le C.U.B et les corpuscules de Stannius (Chan, 1971), l'autre admet surtout un antagonisme entre l'action hypercalcémiante de l'hypophyse et hypocalcémiante des corpuscules de Stannius en négligeant l'importance du C.U.B (Pang, 1971). L'étude du tissu osseux nous a fourni des résultats qui nous permettent de penser que le problème est beaucoup plus complexe (tableau XXIII) et met en jeu à la fois l'action de l'hypophyse (par l'intermédiaire des glandes génitales, de la thyroïde, et probablement de l'interrénal), du C.U.B et des corpuscules de Stannius. En résumé : chez les Téléostéens, les glandes endocrines favorisant la déminéralisation osseuse sont multiples (mais sous contrôle hypophysaire), il y a manque de spécialisation dû probablement au fait que nous sommes en présence de Vertébrés inférieurs. Par contre, une glande unique, le C.U.B, sécrète une hormone, la CT, capable de contrebalancer, au niveau de l'os, les nombreux effets hormonaux catabolisants. Les Poissons Téléostéens vivent continuellement dans un milieu riche en calcium et leur calcémie est parfaitement régulée ; des glandes originales, les corpuscules de Stannius contrôlent les entrées de cet ion et sa concentration dans le milieu intérieur ainsi que sa fixation dans les différents tissus et dans l'os en particulier. Corpuscules de Stannius et C.U.B sont deux glandes hypocalcémiantes qui agissent par des mécanismes différents. Il est d'ailleurs probable que la CT, chez les Téléostéens, n'agit pas exclusivement au niveau osseux mais aussi au niveau du rein (Chan, 1971) et des branchies. Cette hypothèse d'une action au niveau des cellules bordantes osseuses, des cellules rénales et des cellules branchiales permet d'envisager un rôle physiologique pour cette hormone chez les Sélaciens et chez les Poissons à os acellulaire (non dépourvu de cellules bordantes).

Selon les besoins de l'organisme l'os cellulaire des Poissons Téléostéens réagit : soit en se déminéralisant, soit en fixant le calcium d'une façon accrue, pour ces efforts, il y a mise en jeu, sous contrôle endocrinien, de divers processus ; ce tissu a donc un rôle important dans le maintien de l'homéostasie calcique.

Les Vertébrés terrestres ne pouvant fixer le calcium directement à partir du milieu dans lequel ils vivent, la nécessité d'une glande spécialisée sécrétant une hormone capable de puiser cet ion à partir de la réserve squelettique s'est précisée, d'où, nous le supposons, l'apparition des parathyroïdes. Celles-ci, en libérant du phosphate serviraient aussi à contrebalancer l'accumulation des ions H^+ dans le sang qui ne sont plus éliminés par les branchies (Wells, 1970). Les corpuscules de Stannius disparaissent, on peut supposer qu'ils ne sont utiles que dans le cas d'une vie totalement aquatique, afin d'affiner l'osmorégulation ainsi qu'ils semblent le faire chez les Poissons Téléostéens.

Source : MNHN, Paris

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Amprino R., Godina G. — Renouvellement structural du tissu osseux des Poissons Téléostéens. C. R. Ass. Anat., 80, 573-580, (1954).

Arams P., Jowsey J. — Bone and mineral metabolism in hyperthyroidism : an experimental study. Endocrinology, 81, 735-740, (1967).

Ascenzi A., Bonucci E. — Étude comparée au microscope électronique des phases initiales de la calcification de l'os et du cartilage. Dans : Phosphate et métabolisme phosphocalcique. Symposium international, 14-16 octobre 1970, Paris, p. 65-77. Ed. Laboratoires Sandoz. L'expansion scientifique française, Paris, (1971).

Bailey R.E. — The effect of estradiol on serum calcium, phosphorus and protein of goldfish. J. Exp. Zool., 136, 455-469, (1957).

Ball J.N., Enson D.H. — Specific action of prolactin on plasma sodium levels in hypophysectomized Poecilia latipinna (Teleostei). Gen. Comp. Endocr., 8, 432-440, (1967).

Barnicot N.A. — Some data on the effect of parathormone on the grey-lethal mouse. J. Anat., 79, 83-91, (1945).

Baud C.A. — Radiographies et microradiographies osseuses quantitatives. Praxis, 46, 329-331, (1957).

Baud C.A. — Morphologie et structure inframicroscopique des ostéocytes. Acta Anat. (Basel), 51, 209-225 (1962).

Baud C.A. — The fine structure of normal and parathormone treated bone cells. Proc. 4th Europ. Symp. Calcified Tissues, Leiden, 1966, ed. by P.J. Gaillard, A. van den Hoof and R. Steendijk. Intern. Congress, ser. nº 120, p. 4-6. Amsterdam : Excerpta Medica Foundation (1966).

Baud C.A. — Structure et fonctions des ostéocytes dans les conditions normales et sous l'influence de l'extrait parathyroïdien. Schweiz. Med. Wschr. 98, 717-720, (1968 a).

Baud C.A. — Submicroscopic structure and functional aspects of the osteocyte. Clin. Orthop. 56, 227-236 (1968 b).

Baud C.A., Auil E. — Osteocyte differential count in normal human alveolar bone. Acta Anat., 78, 321-327, (1971).

Baud C.A., Auil E. ,Tupling M.R. — Critères morphologiques qualitatifs et quantitatifs de l'activité ostéocytaire. Réunion scientifique inaugurale de l'Institut Calot (Berck), (1968).

Baud C.A., Dupont D.H. — Démonstration histochimique des mucopolysaccharides dans le tissu osseux non décalcifié. Bull. Micr. Appl., 11, 121-125, (1961).

Baud C.A., Dupont D.H. — Sur la biflnorescence du tissu osseux traité par les tétracyclines. C. R. Acad. Sci., (Paris), 254, 3129-3130, (1962).

Baud C.A., Dupont D.H. — Action des hormones sur le tissu osseux. Extrait de la Rev. Clin. Biol. IX, 224-231, (1964).

Baud C.A., Dupont D.H. — Le remaniement osseux périlacunaire. C. R. Acad. Sci. (Paris), 260, 1483-1484, (1965).

Baud C.A., Morgenthaler P.W. — Structure submicroscopique du rebord lacuno-canaliculaire osseux. Morph. Jb., 104, 476-486, (1963).

Baud C.A., Morgenthaler P.W. — Étude quantitative des espaces submicroscopiques interfibrillaires de la substance osseuse. Morph. Jb., 105, 333-342, (1964).

3 564 008 6

Source : MNHN, Paris

Baud C.A., de Siebenthal J., Langer B., Tupling M. R., Mach R.S. — Effet de l'administration prolongée de thyrocalcitonine dans l'ostéoporose sénile humaine. Étude clinique, histologique et microradiographique. Schweiz Med. Wschr., 99, 657-661, (1969 a).

Baud C.A., de Siebenthal J., Langer B., Tupling M.R., Mach R.S. —The effects of prolonged administration of thyrocalcitonin in human senile osteoporosis. Calcitonin 1969. Proceedings of the second international symposium p. 541-546. London 21-24 July ed. S. Taylor. William Heinemann medical books Ltd. London (1969 b).

Baud C.A., Weber-Slatkine S. — Aspects microscopiques et submicroscopiques des ostéoplastes du tissu osseux compact. Bull. Micr. Appl., 11, 73-76, (1961).

Baylink D.J., Wergedal J.E. — Bone formation by osteocytes. American Journal of Physiology, 221, 669-678, (1971).

Belanger L.F. — Ostéolyse, phénomène normal et pathologique. Laval Med., 37, 537-542, (1966).

Belanger L.F., Choquette L.P.E., Cousineau J.G. — Osteolysis in reinder antlers ; sexual and seasonal variation. Calc. Tiss. Res., 1, 37-43, (1967).

Belanger L.F., Drouin P. — Osteolysis in the frog. The effects of parathormone. Canad. J. Physiol. Pharmacol., 44, 919-922, (1966).

Belanger L.F., Migicovski B.B., Copp D.H., Vincent J. — Resorption without osteoclasts (osteolysis). In : Mechanisms of hard tissue destruction, ed. R.F. Sognnaes, p. 531-556. Washington : Publication nº 75 of the American Association for the advancement of Science (1963).

Benicrou C., Mery Chr. — Hormones thyroïdiennes iodées et métabolisme phosphocalcique. Sem. Hôp. Paris, 47, 1625-1629, (1971).

Benoit J., Grangraud R., Sarfati S. — Modifications squelettiques et sériques consécutives à l'activation ovarienne déclenchée par l'éclairement artificiel chez la Cane domestique. C. R. Soc. Biol. (Paris), 135, 1482-1485, (1941).

Bertin L. — Squelette axial dans Agnathes et Poissons, anatomie éthologie systématique, traité de Zoologie, publié sous la direction de P. Grassé, Tome XIII, fascicule 1, p. 688-709, Masson, Paris (1958).

Bhaskar S.N., Mohammed I., Weinmann J.P. — A morphological and histochemical study of osteoclasts. J. Bone Joint Surg., 38 A, 1335-1345, (1956).

Blanc M. — Contribution à l'étude de l'ostéogenèse chez les Poissons Téléostéens. Thèse de la Faculté des Sciences de l'Université de Paris. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle ; nouvelle série, série A, Zoologie, t. 7, fasc. 1, 1-156, (1953).

Bloom W., Bloom M.A., Mc Lean F.C. — Calcification and ossification. Medullary bone changes in the reproductive cycle of female Pigeons. Anat. Rec., 87, 443-475, (1941).

Bobin G. — Images histo-cytologiques des corpuscules de Stannius de l'Anguille européenne. Arch. Zool. Exp. Gen., 86, 1-7, (1949).

Bohatirchuk F. — Calciolysis as the initial stage of bone resorption. A stain historadiographic study. Amer. J. Med., 41 836-846, (1966).

Bonucci E. — The locus of initial calcification in cartilage and bone. Clin. Orthopaed. and related research. nº 78, 108-139, (1971).

Bordier Ph., Matrajt H., Miravet L., Hioco D. — Mesure histologique de la masse et de la résorption des travées osseuses. Path. et Biol., 12, 1238-1243, (1964).

Boroughs H., Townsley S.J., Hiatt R.W. — The metabolism of radionuclides by marine organisms. III. The uptake of calcium 45 in solution by marine fish. Limnol. Oceanog., 2, 28-31, (1957).

Burkhart M.J., Jowsey J. — Parathyroid and thyroid hormones in the development of immobilization osteoporosis. Endocrinology, 81, 1053-1062, (1967).

Buser J. — La prégnéninolone utilisée comme facteur antithyroïdien et son rôle inhibiteur sur la régénération chez Lebistes reticulatus et Ameiurus nebulosus. Bull. Soc. Zool. Fr., 75 (2-3), 75-80, (1950).

Butler D.G. — Corpuscules of Stannius and renal physiology in the eel (Anguilla rostrata). J. Fish. Res. Can., 26, 639-654, (1969).

Cancceda M., Angioi A. — Atti della societa Italiana delle Scienze Veterinarie, 23, 310-313, (1969).

Carneiro J., Leblond C.P. — Role of osteoblasts and odontoblasts in secreting the collagen of bone and dentin, as shown by radioautography in mice given tritium labeled glycin. Exp. Cell. Res., 18, 291-300, (1959).

Source : MNHN, Paris

Castanet J., Gasc J.P., Meunier F., de Ricqles A. — Calcium et nature des zones de croissance cyclique dans l'os des Vertébrés poïkilothermes. C. R. Acad. Sc., Paris, 270, 2853-2856, (1970).

Cedard L., Nomura T. — Dosage fluorimétrique après chromatographie de partage des œstrogènes dans le sang de certains Téléostéens. Bull. Inst. Océanogr. Monaco, n° 1196, 58, 1-8, (1961).

Chan D.K.O. — Endocrine regulation of calcium and inorganic phosphate balance in the fresh water adapted Teleost fish, Anguilla anguilla and Anguilla japonica. Excerpta med. Internat. Congress, ser. 184, 709-716, (1969).

Chan D.K.O. — Hormonal regulation of calcium balance in Teleost fish. VIème Symposium international d'Endocrinologie Comparée. Banff, Canada, juin 1971. Gen. Comp. Endocr, suppl 3, 715-728, (1972).

Chan D.K.O., Chester-Jones I. — Regulation and distribution of plasma calcium and inorganic phosphate in the European eel (Anguilla anguilla L.). J. Endocr., 42, 109-117, (1968).

Chan D.K.O., Chester-Jones I., Smith R.N. — The effect of mammalian calcitonin on the plasma levels of calcium and inorganic phosphate in the European eel (Anguilla anguilla). Gen. Comp. Endocr., 11, 243-245, (1968).

Chan D.K.O., Henderson I.W., Rankin J.C. — Studies on the experimental alteration of water and electrolyte composition in the eel (Anguilla anguilla L.). J. Endocr., 37, 297-317, (1967).

Chang H.Y. — Grafts of parathyroid and other tissues to bone. Anat. Rec., 111, 23, (1951).

Chartier-Baraduc M.M. — Effets de l'administration prolongée d'hormones thyroïdiennes sur la composition hydrominérale de quelques tissus de la Truite arc-en-ciel, Salmo gairdnerii. C. R. Soc. Biol., 162, 640-644, (1968).

Chartier-Baraduc M.M. — Résultats inédits, communication personnelle.

Chester-Jones I., Henderson I.W., Chan D.K.O., Rankin J.C. — The role of the adrenal cortex and the corpuscles of Stannius in the electrolyte balance of the eel. Gen. Comp. Endocr., 5, 669, (1965).

Chester-Jones I., Henderson I.W., Chan D.K.O., Rankin J.C. — Steroids and pressor substances in long fish with special reference to the adrenal cortex and corpuscles of Stannius of the eel (Anguilla anguilla L.). Proc. Inter. Congr. Steroid Hormones, 2nd Milan, mai, 23-28. Excerpta Medica Foundation Internat. Congr. Ser., 99, 136-143, (1967).

Clark N.B., Fleming W.R. — The effect of mammalian parathyroid hormone on bone histology and serum calcium levels in Fundulus kansae. Gen. Comp. Endocr., 3, 461-467, (1963).

Cooper R., Milgram S.W., Robinson R.A. — Morphology of the osteon an electron microscopic study. J. Bone Jt. Surg., 48, 1239-1271, (1966).

Copp D.H. — The ultimobranchial glands and calcium regulation. In Fish Physiology, 2 ,377-398, eds, Hoar W.S., Randall D.T., Academic Press, N.Y. (1969).

Copp D.H. — Endocrine regulation of calcium metabolism. Ann. Rev. Physiol., 32, 61-86, (1970).

Copp D.H., Cockroft D.W., Kueh Y. — Calcitonin from ultimobranchial glands of dogfish and chicken. Science, 158, 924-925, (1967).

Copp D.H., Cockroft D.W., Kueh Y., Melville M. — Calcitonin ultimobranchial hormone. In : Calcitonin. ed. S. Taylor Springer-Verlag. N.Y., 306-321, (1968).

Copp D.H., Parkes C.O. — Extraction of calcitonin from ultimobranchial tissue. In : Parathyroid hormone and thyrocalcitonin (calcitonin). eds. R.V. Talmage and L.F. Bélanger, Excerpta Med. Found. Amsterdam, 74-82, (1968).

Currie G.N., Black D.L. Effets of œstrogen on thyrocalcitonin activity in male and female rabbits. Acta Endocrinol. 71, 55-61 (1972).

Deville J., Lopez E. — Le corps ultimobranchial du Saumon Salmo salar L. Étude histophysiologique à diverses étapes de son cycle vital en eau douce. Arch. d'Anat. Microsc., 59, 393-402, (1970).

Dix M.W., Pang P.K.T., Clark N.B. — Lizard calcium metabolism : lack of effect of mammalian calcitonin serum calcium or phosphate levels in normal and parathyroidectomized Lizards Anolis carolinensis. Gen. Comp. Endocr., 14, 243-247, (1970).

Dupont D.H. — Contribution à l'étude de la croissance et du remaniement osseux chez la Souris. Ann. de la Soc. Suisse de Zool. et du Muséum d'Histoire Naturelle de Genève. 71, 4, (1964).

Duriez J., Ghosez J.P., Flautre B. — La résorption ou lyse périostéocytaire et son rôle possible dans la destruction du tissu osseux. Press Med., 73, 2581-2586, (1965).

Source : MNHN, Paris

Eanes E.D., Posner A.S. — Kinetics and mechanism of conversion of non-cristalline calcium phosphate to crystalline hydroxyapatite. Trans. N.Y. Acad. Sci., 28, 233-241, (1965).

Engfeldt B., Hjertquist S.O. — The functional relation between the thyroid and parathyroids and the effect of the thyroid on bone tissue. Acta Endocrinol., 45, 109-118, (1954).

Ewald F., Tachdjian M.O. — The effect of thyrocalcitonin on fractured humeri. Surg. Gynec. Obstet., 125, 1075-1080, (1967).

Engström A., Wegstedt L. — Equipment for microradiography with soft rœntgen rays. Acta radiol (Stockh.), 35, 345-355, (1951).

Fleisch H., Russel R.G.G., Bisaz S., Casey P.A., Mühlbauer R.C. — The influence of pyrophosphate analogues (diphosphonates) on the precipitation and dissolution of calcium phosphate in vitro and in vivo. Calc. Tiss. Res. 2 suppl., 10-10 A, (1968).

Fleisch H., Russel R.G.G., Francis M.D. — Diphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo. Science, 165, 1262-1264, (1969).

Fleisch H., Russel R.G.G., Straumann F. — Effect of pyrophosphate on hydroxyapatite and its implications in calcium homeostasis. Nature, 5065, 901-903, (1966).

Fleischman W. — Comparative physiology of the thyroid gland. Quart. Rev. Biol., 22, 119-140, (1947).

Fleming W.R. — Calcium metabolism of Teleosts. Am. Zoologist., 7, 835-842, (1967).

Fleming W.R., Meifu A.H. — The effect of mammalian parathormone ou the serum calcium levels of Fundulus Kansae and Fundulus catenatus. Comp. Biochem. Physiol. 2, 1-7, (1961 a).

Fleming W.R., Meier A.H. — Further studies on the effect of mammalian parathyroid extract on the serum calcium levels of two closely related teleost. Comp. Biochem. Physiol., 3, 27-29, (1961 b).

Fleming W.R., Stanley J.G., Meier A.H. — Seasonal effects of external calcium, estradiol and ACTH on the serum calcium and sodium levels of Fundulus kansae. Gen. Comp. Endocr., 4, 61-67, (1964).

Fontaine M. — Sur la maturation complète des organes génitaux de l'Anguille ♂ et l'émission spontanée de ses produits sexuels. C. R. Acad. Sci. (Paris), 202, 1312-1314, (1936).

Fontaine M. — The hormonal control of water and salt electrolyte metabolism in fish. Mem. Soc. Endocr., 5, 69-81, (1956).

Fontaine M. — Corpuscules de Stannius et régulation ionique (Ca, K, Na) du milieu intérieur de l'Anguille (Anguilla anguilla L.). C. R. Acad. Sci. (Paris), 259, 875-878, (1964).

Fontaine M. — Intervention des corpuscules de Stannius dans l'équilibre phosphocalcique du milieu intérieur d'un Poisson Téléostéen, l'Anguille. C. R. Acad. Sci. (Paris), 264, 736-737, (1967).

Fontaine M. — Quelques considérations sur les Poissons migrateurs et leur pisciculture. La pisciculture française, 28, 31-36 (1971).

Fontaine M., Bertrand E., Lopez E., Callamand O. — Sur la maturation des organes génitaux de l'Anguille femelle (Anguilla anguilla L.) et l'émission spontanée des œufs en aquarium. C. R. Acad. Sci. (Paris), 259, 2907-2910, (1964).

Fontaine M., Callamand O., Vibert R. — La physiologie du Saumon. Ann. Sta. Cent. Hydrobiol. appl., 3, 15-26, (1950).

Fontaine M., Chartier-Baraduc M.M., Deville J., Lopez E., Poncet M. — Sur les variations de la calcémie observées chez Salmo salar L. à diverses étapes de son cycle vital. Leur déterminisme endocrinien et leur intervention éventuelle sur le comportement. C. R. Acad. Sc. (Paris), 268, 1958-1961, (1969).

Fontaine M., Deville J., Lopez E. — Ecology and regulation of calcium metabolism in coral grazer parrot fish. International symposium on the Oceanography of the South Pacific. Wellington, New-Zealand, 9-15 February 1972.

Fontaine M., Lopez E., Delerue N., Martelly E. — Corpuscles of Stannius and calcification of the bone of Teleosts. Abstract du VII^eme Congrès panaméricain d'Endocrinologie, São Paulo, Brésil, p. 75, (1970).

Fontaine M., Martelly-Bagot E. — Résultats inédits, communication personnelle.

Fontaine M., Poncet M. — Comportement de l'Anguille privée de corpuscules de Stannius et rapports ioniques du cerveau et du muscle. V^eme Conférence of european comparative endocrinologists. Utrecht, 1969. Gen. Comp. Endocr. 13, 517, Abs n° 90, (1969).

Fontaine M. et coll. — Résultats inédits.

Source : MNHN, Paris

FOSTER G.V., DOYLE F.H., BORDIER P., MATRAJT H. — In vivo effect of thyrocalcitonin on bone. Vème symposium européen sur les tissus calcifiés. Bordeaux, 173-177, (1967).

FOSTER G.V., MAC INTYRE I., PEARSE A.G.E. — Calcitonin production and the mitochondrion rich-cells of the dog thyroid. Nature, 203, 1029-1030, (1964).

FROST H.M. — Staining of fresh, undecalcified, thin bone sections. Stain Technol., 34, 135-146, (1959).

FROST H.M. — In vivo osteocyte death. J. Bone Jt. Surg., 42 A, 138-150, (1960).

FROST H.M., VILLANUEVA A.R., ROTH H. — Qualitative method for measuring osteoclastic activity. Henry Ford Hosp. Bull., 10, 217-228, (1962).

FUJITA T., ORIMO H., OKATA M., YOSHIKAWA M. — Prevention of experimental bone atrophy by thyrocalcitonin. Endocrinologica Japonica, 15, 8-12, (1968).

GAILLARD P.J. — Parathyroid gland tissue and bone « in vitro ». I. Exp. Cell. Res., suppl. 3, 154, (1955).

GAILLARD P.J. — Parathyroid gland and bone in vitro. Schweiz. Med. Wschr.,. 87, suppl. 14, 217-228, (1957).

GAILLARD P.J. — Parathyroid gland and bone in tissue culture. VI. Develop. Biol., 1, 152-181, (1959).

GARN S.M. — The earlier gain and the latter loss of cortical bone in nutritional perspective. p. 17, Thomas C.C. ed. Library of Congress catalog. card nº 73, 119.977. Springfield Illinois (USA) (1970).

GODWIN M.C. — Complex IV in the dog with special emphasis on the relation of the ultimobranchial body to interfollicular cells in the post natal thyroid gland. Am. J. Anat., 60, 299-339, (1937).

GOLDHABER P. — Behavior of bone in tissue culture. In « Calcification in biological systems », p. 349-372. Ed. Sognaes R.F. Washington. American Association for the advancement of Science, (1960).

GOLDHABER P. — Some chemical factors influencing bone resorption in tissue culture. In : Mechanisms of hard tissue destruction, ed. R.F. Sognaes, p. 609-636, Washington. Publication nº 75, of the American association for the advancement of Science, (1963).

GOTTFRIED H., HUNT S.V., SIMPSON T.H., WRIGHT R.S. — Sex hormones in fish. The œstrogens of cod (Gadus callarias). J. Endocr., 24, 425-430, (1962).

GUTTMANN S.T., PLESS J., HUGHENIN R.L., SANDRIN Ed., BOSSERT H., ZEHNDER K. — Synthesis of a highly potent hypocalcaemic dotriacontapeptide, having properties of Salmon calcitonin. In : Calcitonin 1969. Proceedings of the second international symposium, p. 74-79. London 21-24 July, ed. S. Taylor. William Heinemann medical books Ltd. London, (1969).

HABBES A.L. — Étude microradiographique quantitative de l'os alvéolaire humain adulte. Thèse. Rev. mens. Suisse Odonto-Stomatol., 67, 130-141, (1967).

HANCOX N.M., BOOTHROYD B. — Structure — function relationships in the osteoclast. In : Mechanisms of hard tissue destruction, ed. R.F., Sognaes p. 497-514, Washington : American Association for the advancement of Science, (1963).

HARPER R.A., POSNER A.S. — Measurement of non-crystalline calcium phosphate in bone mineral. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 122, 137-142, (1966).

HARRIS W.H., JACKSON R.H., JOWSEY J. — The in vivo distribution of tetracyclines in canine bone. J. Bone Jt. Surg., 44 A, 1308-1320, (1962).

HENNIG A. : — Considérations critiques sur les mesures de volume et de surface en microscopie. Bull. Tech., Zeiss 30, 78-87, (1958).

HESS A.F., BILLS C.E., WEINSTOCK M., RIVKIN H. — Difference in calcium levels of the blood between the male and female Cod. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 25, 349, (1928).

HIRSCH P.F., MUNSON P.L. — Thyrocalcitonin. Physiological Reviews, 49, 548-622, (1969).

HOAR W.S. — Hormones in fish. In : Some aspects of the Physiology of Fish. Univ. Toronto Biol., ser. 59, 1-51, (1951).

HOAR W.S. — Endocrine organs. In : The physiology of fishes. ed. M.E. Brown, vol. I, chap. 6, Academic Press, N.Y., (1957).

JARVIK E. — Théories de l'évolution des vertébrés. Préface et traduction de LERMAN J.P. Eds. MASSON et Cie. Librairies de l'Académie de Médecine 120, Boulevard St Germain, Paris VIème (1960).

JENKINS G.N., DOWES C. — The possible role of chelation in decalcification of biological systems. In : Mechanisms of hard tissue destruction, ed. R.F. Sognaes, p. 637-662. Washington. Publication nº 75, of the American association for the advancement of Science, (1963).

Source : MNHN, Paris

Jowsey J. — Microradiography of bone resorption. In : Mechanisms of hard tissue destruction, ed. R.F. Sognnaes, p. 447-469. Washington : Publication n° 75, of the American association for the advancement of Science, (1963).

Jowsey J. — Variations in bone mineralization with age and disease. In : Bone biodynamics, ed. H.M. Frost, p. 461-479. Boston, Little Brown and Co., (1964).

Jowsey J., Kelly P.J., Riggs B.L., Bianco A.J., Scholtz D.A., Gershon-Cohen J. — Quantitative microradiographic studies of normal and osteoporotic bone. J. Bone Jt. Surg., 47 A, 785-806, (1965).

Kallio D.M., Garant P.R., Minkin. C. — Evidence for an ultrastructural effect of calcitonin on osteoclasts in tissue culture. In : Calcium, Parathyroid Hormone and the Calcitonins. Proceedings of the fourth parathyroid conference Chapel Hill, N.C., USA, March 15-19, 1971. Eds : RV. Talmage, P.L. Munson. Chapel Hill, N.C. USA. Excerpta Medica Foundation Amsterdam (1972).

Kilian H.F. — Das halistercsische Becken. Bonn 1857.

Knese K.H., Harnack M. Von. — Uber die faserstruktur des knochengewebes. Z. Zellforsch., 57, 520-558, (1962),

Knese K.H., Knopp A.M. — Chondrogenese und osteogenese : elektronenmikroskopische und lichtmikroskopische untersuchungen. Z. Zellforsch., 55, 413-468, (1961).

Kölliker A. — On tbe different types in the microscopic structure of the sketeton of osseous fish. Roy. Soc. London, Proc., 9, 656-688, (1859).

Kyes P., Potter T.S. — Physiological marrow ossification in female pigeons. Anat. Rec., 60, 377-379, (1934).

Lacroix P. — The organization of bones. Ch. 3, London : J. and A. Churchill Ltd., (1951).

Lacroix P. — Recherches sur le remaniement interne des os. Arch. Biol., 81, 275-304, (1970).

Laitinen O. — The metabolism of collagen and its hormonal control in the rat. Acta endocrinologica suppl. 120, 73-80. (1967).

Leloup J., Leloup-Hatey J. — Influence de l'ablation des corpuscules de Stannius sur le fonctionnement thyroïdien de l'Anguille normale et hypophysectomisée. C. R. Soc. Biol., (Paris) 158, 6, 1273-1276, (1964).

Leloup-Hatey J. — Fonctionnement de l'interrénal antérieur de deux Téléostéens : le Saumon atlantique et l'Anguille européenne. Ann. Inst. Océanogr., 42, 221-338, (1964 a).

Leloup-Hatey J. — Modifications de l'équilibre minéral de l'Anguille (Anguilla anguilla L.) consécutives à l'ablation des corpuscules de Stannius .C. R. Soc. Biol. (Paris), 158, 711-715, (1964 b).

Leriche R., Policard A. — Les mutations chimiques locales et l'action de présence de l'os dans l'ostéogenèse réparatrice. C. R. Soc. Biol., 81, 977-981, (1918).

Leriche R., Policard A. — Pbysiologie normale et pathologique de l'os. Masson, Paris, 1926.

Leriche R., Policard A. — The normal and pathological physiology of bone. J.V. Mosby, 1928.

Lipp W. — Neu untersuchungen des knochengewebes (Morphologie Histochemie und Beeinflussung durch das periphe vegetative nervensystem, durch fermente und hormone). II. Histologisch erfassbare leben säusserungen der knochenzellen. Acta Anat., 22, 151-201, (1954).

Lobjoie D.P. — Étude biophysique des couches superficielles de l'émail dentaire humain. Rev. Mens. Suisse, Odonto Stomatol.,75, 1308-1327, (1965).

Lopez E. — Étude histophysiologique des corpuscules de Stannius de Salmo salar L. au cours des diverses étapes de son cycle vital. Gen. Comp. Endocr., 12, 339-349, (1969).

Lopez E. — L'os cellulaire d'un Poisson Téléostéen, Anguilla anguilla L. I. Étude histocytologique et histophysique. Z. Zellforsch., 109, 552-565, (1970 a).

Lopez E. — L'os cellulaire d'un Poisson Téléostéen, Anguilla anguilla L. II. Action de l'ablation des corpuscules de Stannius. Z. Zellforsch., 109, 566-672, (1970 b).

Lopez E. — Demonstration of several forms of decalcification in bone of the Teleost fish, Anguilla anguilla L. Cal. Tiss. Res., suppl. 4, 83, (1970 c).

Lopez E., Chartier-Baraduc M.M., Deville J. — Mise en évidence de l'action de la calcitonine porcine sur l'os de la Truite Salmo gairdnerii soumise à un traitement déminéralisant. C. R. Acad. Sc., (Paris), 272, 2600-2603, (1971).

Lopez E., Deville J., Bagot E. — Étude histophysiologique du corps ultimobranchial d'un Téléostéen « Anguilla anguilla L. » au cours d'hypercalcémies expérimentales. C. R. Acad. Sc., (Paris), 267, 1531-1534, (1968).

Source : MNHN, Paris

LOPEZ E., LEE H.S., BAUD C.A. — Étude histophysique de l'os d'un Téléostéen, Anguilla anguilla L. au cours d'une hypercalcémie provoquée par la maturation expérimentale. C. R. Acad. Sc., (Paris), 270, 2015-2017, (1970).

LOPEZ E., MARTELLY-BAGOT E. — L'os cellulaire d'un Poisson Téléostéen, Anguilla anguilla L. III. Étude histologique et histophysique au cours de la maturation provoquée par injections d'extrait hypophysaire de Carpe. Z. Zellforsch., 117, 176-190, (1971).

LOUW G.N., SUTTON W.W., KENNY A.D. — Action of thyrocalcitonin in the Teleost fish, Ictalurus melas. Nature, 215, 888-889, (1967).

LOVELACE F.E., PODOLIAK H.A. — Absorption of radiocalcium by brook trout. Progressive Fish Culturist, 14, 154-158, (1952).

LUPO G., CHIEFFI G. — Oestrogens and progesterone in ovaries of the Marine Teleost, Conger conger. Nature, (London), 197, 596, (1963).

MAC INTYRE I. — Human calcitonin : practical and theoretical consequences. Calcitonin, 1969. Proceedings of the second international symposium, p. 1-13, London 24-24 July. ed. S. Taylor. William Heinemann medical books Ltd. London (1969).

MAZEAUD F. — Publication en cours (1972).

MEYER A. — Recherches sur l'infrastructure du tissu osseux à l'état normal et au cours de l'ostéoporose post-traumatique. Thèse, Médecine, Strasbourg, (1961).

MILCH R.A., TOBIE J.E., ROBINSON R.A. — A microscopic study of tetracycline localization in skeletal neoplasms. J. Histochem. Cytochem., 9, 261-270, (1961).

MILHAUD G., PERAULT A.M., MOUKHTAR M.S. — Étude du mécanisme de l'action hypocalcémiante de la thyrocalcitonine. C. R. Acad Sc., (Paris) 264, 813-816, (1965).

MILHAUD G., TSIEN-MING L., MOUKHTAR M.S. — Synergie et antagonisme de la thyroxine de la parathormone et de la thyrocalcitonine sur la calcémie et la phosphatémie. C. R. Acad, Sc., (Paris) 264, 846-849, (1967).

MOSELEY J.M., MATTHEWS E.W., BRIEN R.M., GALANTE L., TSE A., MAC INTYRE I. — The ultimobranchial origin of calcitonin. Lancet, 1, 108-110, (1968).

MOUKHTAR M.S. — Résultats inédits, communication personnelle.

MOURA A.M. — Contribution à l'étude de quelques propriétés physiologiques de la calcitonine : mise en évidence de l'interaction « thyroxine — calcitonine » au niveau de l'os. Thèse Doctorat Sciences, Bordeaux, n° 303, (1970).

MOSS M.L. — Osteogenesis of acellular Teleost fish bone. J. Amer. Anat., 108, 99-104, (1961).

MOSS M.L. — Studies of the acellular bone of Teleost fish. II. Response to fracture under normal and acalcemic conditions. Acta Anat., 48, 46-60, (1962).

MOSS M.L. — The biology of acellular Teleost bone. Ann. N.Y., Acad. Sci., 109, 337-350, (1963).

MOSS M.L., FRELICH M. — Studies of the acellular bone of Teleost fish. IV. Inorganic content of calcified tissues. Acta Anat. (Basel), 55, 1-8, (1963).

MOSS M.L., POSNER A.S. — X-ray diffraction study of acellular Teleost bone. Nature (London), 188, 1037-1038, (1961).

MOUSSET G. — Sur la maturation sexuelle du Congre. Bull. Centre Et. Rech. Sc., Biarritz, 1, 559-561, (1957).

MOY-THOMAS J.A. — The early evolution and relationships of Elasmobranchs. Biol. Rev., 14. 1-26 (1939).

NEDIR A.H. — Étude microradiographique quantitative du remaniement de l'os alvéolaire humain adulte. Rev. mens. Suisse, Odonto-Stomatol., 77, 864-877, (1967).

NIALL H.D., KEUTMANN H.T., COPP D.H. and POTTS J.T. JR — Amino acid sequence of Salmon ultimobranchial calcitonin. Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S), 64, 771-778, (1969).

NICHOLS G., JR. — In vitro studies of bone resorptive mechanisms. In : Mechanisms of hard tissue destruction, ed. R.F. Sognnaes, p. 531-556. Washington : Publication n° 75, of the American association for the advancement of science, (1963).

NORRIS W.P., CHAVIN W., LOMBARD L.S. — Studies of calcification in a marine Teleost. Ann. N.Y., Acad. Sci., 109, 312-336, (1963).

O'DOR R.K., PARKES C.O., COPP D.H. — Biological activities and molecular weights of ultimobranchial and thyroid calcitonins. Comp. Biochem. Physiol., 29, 295-300, (1969 a).

Source : MNHN, Paris

O'Dor R.K., Parkes C.O., Copp D.H. — Amino acid composition of Salmon calcitonin. Can. J. Biochem., 47, 823-825, (1969 b).

Ogawa M. — Osmotic and ionic regulation in goldfish following removal of the corpuscles of Stannius or the pituitary gland. Can. J. Zool., 46, 669-676, (1968).

Oguri M., Takada N. — Serum calcium and magnesium levels of goldfish, with special reference to the gonadal maturation. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish., 32, 28-31, (1966).

Olivereau M. — Observations sur l'hypophyse de l'Anguille femelle en particulier lors de la maturation sexuelle. Z. Zellforsch., 80, 286-306, (1967).

Olivereau M. — Communication personnelle, résultats inédits.

Olivereau M., Fontaine M. — Étude cytologique de l'hypophyse de l'Anguille femelle mûre. C. R. Soc. Biol., 160, 1374-1379, (1966).

Orimo H., Ohata M., Fujita T. — Role of inorganic pyrophosphatase in the mechanism of action of parathyroid hormone and calcitonin. Endocrinology, 89, 852-858, (1971).

Ørvig T. — Histologic studies of Placoderms and fossil Elasmobranchs. 1. The endoskeleton, with remarks on the hard tissues of lower vertebrates in general. Ark. Zool. [2] 2, 321-454, (1951).

Pang P.K.T. — The hormonal control of serum calcium, phosphate and magnesium levels in the killifish, Fundulus Heteroclitus : with special reference to calcitonin. Amer. Zool., 9, 1081, (1969).

Pang P.K.T. — Calcitonin and ultimobranchial glands in fishes, in : Comparative studies of calcitonin and ultimobranchial bodies. J. exp. Zool., 178, nº 1, 89-99, (1971).

Pang P.K.T., Pickford G.E. — Failure of hog thyrocalcitonin to elicit hypocalcemia in the Teleost fish, Fundulus heteroclitus. Comp. Biochem. Physiol., 21, 573-578, (1967).

Pearse A.G.E. — The cytochemistry of the thyroid C cells and their relationship to calcitonin. Proc. Roy. Soc (London), ser. B, 164, 478-487, (1966).

Pearse A.G.E., Carvalheira A.F. — Cytochemical evidence for an ultimobranchial origin of rodent thyroid C cells. Nature, 214, 929-930, (1967).

Perard Ch. — Le Congre caoutchouc. C. R. Acad. Sc., (Paris), 189, 1024-1027, (1929).

Pickford G.E. — A study of the hypophysectomized male killifish, Fundulus heteroclitus (Linn.). Bull. Bingham oceanogr. Coll., 14, 5-41, (1953).

Podoliak H.A. — Some effects of stress on the osmotic tolerance of fingerling brown trout. Cortland Hatchery Report nº 33, 71-78, (1965).

Prenant M. — Régénération des rayons osseux articulés après amputation des nageoires chez des Téléostéens. C. R. Soc. Biol., 127, 980-982, (1938).

Pritchard J.J. — The osteoblast, in : The biochemistry and physiology of bone. Academic Press Inc. N.Y., Ed. Bourne G.H., 179-212, (1956).

Rasmussen H., Kurokawa K., De Long A. — Phosphate and bone cell function. dans : phosphate et métabolisme phosphocalcique. Symposium international 14-16 Octobre 1970. Paris, p. 7-27. Ed. Laboratoires Sandoz. L'expansion scientifique française, Paris, 1971.

Rasquin P., Rosenbloom L. — Endocrine imbalance and tissue hyperplasia in Teleost maintained in darkness. Bull. Amer. Mus. Nat. Hist., 104, 363-425, (1954).

Recklinghausen F. Von — Untersuchungen über Rachitis und osteomalcia. Jena : Gustav Fischer, 1910.

Reynolds J.J., Minkin C., Parsons J.A. — The response of mouse bones to calcitonin preparations from different species. Calc. Tiss. Res., 4, 350-358, (1970).

Richelle L.J., Onkelinx C. — Recent advances in the physical biology of bone and other hard tissues. In : Mineral metabolism and advanced treatise, p. 123-190. Ed. Comar C., Bronner F., Vol. 3, N.Y. Academic Press, (1969).

Robertson D.R. — The ultimobranchial body in Rana pipiens. II. The various cell types and the fate of secretory granules in the parenchyma of the yound adult. Z. Zellforsch. Mikrosc. Anat., 67, 584-599, (1965).

Robertson D.R. — The ultimobranchial body in Rana pipiens. IV. Hypercalcemia and glandular hypertrophy. Z. Zellforsch., 85, 441-452, (1968 a).

Robertson D.R. — The ultimobranchial body in Rana pipiens. VI. Hypercalcemia and secretory activity, evidence for the origin of calcitonin. Z. Zellforsch., 85, 453-465, (1968 b).

Source : MNHN, Paris

ROBERTSON O.H., WEXLER B.C. — Hyperplasia of the adrenal cortisol tissue in pacific Salmon (Genus Oncorhynchus) and rainbow trout (Salmo gairdneriі) accompanying sexual maturation and spawning. Endocrinology, 65, 225-238, (1959).

ROMER A.S. — The « ancient history " of bone. Annals of the N.Y. Acad. of Sci., 109, 168-176, (1963).

ROSENTHAL H.L. — Uptake, turnover and transport of bone seeking elements in fishes. Ann. N.Y. Acad. Sci., 109, 278-293, (1963).

RUTISHAUSER E., MAJNO G., ROUILLE C.H. — L'halastasie du tissu osseux. Étude des variations minérales secondaires à un traumatisme thermique. Schweiz Z. Path., 16, 118-124, (1953).

SCHENK K.R., MERZ W.A., MULLER J. — A quantitative histological study on bone resorption in human cancellous bone. Acta Anat., 74, 44-53, (1969).

SCOTT D.B. ,NYLEN M.V., PUGH M. H.— Some technical aspects of microradiography. Norelco Rep., 9, 103-109, (1962).

SEMBA T., TOLNAI S., BELANGER L.F. — Observations on the fine structure of chick embryo osteocytes ; effects of parathyroid extract. In : Vf fnternat. Congr. for Electron Microscopy, Nihonbashi, Tokyo, Maruzen Co. Ltd., (1966).

SILBERBERG M., SILBERBERG R. — Effect of castration and intermittent administration of œstrogen on knee joints and femoral shafts of mice. Path. and Microbiol., 33, 274-286, (1969).

SIMKISS K. — Calcium metabolism and avian reproduction. Biol. Rev., 36, 321-367, (1961).

SIMKISS K. — Calcium in reproductive physiology, p. 155-197, ed. Chapman et Hall, (London), (1967).

SIMMONS D.J., SIMMONS N.B., MARSHALL J.H. — The uptake of calcium-45 in the acellular-boned Toadfish. Calc. Tiss. Res., 5, 206-221, (1970).

SISSONS H.A., JOWSEY J., STEWART L. — Quantitative microradiography of bone tissue. In : X-ray microscopy and microanalysis. Proceedings of the second international symposium. p. 199-205, Ed. A. Engström. V.E. Cosslett and H.H. Pattee, Amsterdam : Elsevier Publishing Company, (1960).

SMITH J.W. — Collagen fibre patterns in mammalian bone. J. Anat. (London), 94, 329-344, (1961).

SØRENSEN O.H., HINDBERG I. — fnfluence of gonadal hormones on the action of calcitonin in the rat. Acta Endocrinol. 68, 585-596, (1971).

STENSIÖ E.A. — The dovontonian and devonian vertebrates of spitzbergen. Pt. f : Family Cephalaspidae. Skr. Svalb. Nordish., 12, 1-391, (1927).

STENSIÖ E.A. — Les Cyclostomes fossiles ou Ostracodermes. Traité de Zoologie, publié sous la direction de P. GRASSE, Tome XIII, fascicule 1, p. 173-425, (1958).

STEPHAN P. — Recherches histologiques sur la structure des corps vertébraux des Poissons Téléostéens. Arch. Anat. micr. Morph. exp., 2, 355-372, (1898).

STEPHAN P. — Recherches histologiques sur la structure des corps vertébraux des Poissons Téléostéens. Bull. Sci., Fr. Belg., 33 ,281-429, (1900).

STOECKEL M.E., PORTE A. — Localisation ultimobranchiale et thyroïdienne des cellules C (cellules à calcitonine) chez deux Columbidae : le pigeon et le tourtereau. Z. Zellforsch., 102, 376-386, (1969).

TASHJIAN A.H., MUNSON P.L. — Antibodics to porcine thyrocalcitonin : effects on the hypercalcemic activity of calf, rat and monkey thyroid extracts. Endocrinology, 77, 520-528, (1965).

TAYLOR T.F., BELANGER L.F. — The mechanism of bone resorption in laying hens. Calc. Tiss. Res., 4, 162-173, (1969).

TAYLOR T.F., STRINGER D.A. — Eggshell formation and skeletal metabolism. fn : Avian physiology, 1f. Ed. Sturkie, P.D., p. 155-197. Ithaca, N.Y. Cornel University Press, (1965).

TCHERNAVIN V. — Changes in the Salmon skull. Trans. Zool. Soc. (London), 24, part 1-4, 104-157, (1938-1940).

TERMINE J.D., POSNER A.S. — Amorphous crystalline interrclationships in bone mineral. Calc. Tiss. Res., 1, 8-23, (1967).

TESTUT L. — Traité d'anatomie humaine, 5ème Ed., Paris, Doin (1904).

TREWLIS J. — The structure of teeth as shown by X-ray examination. Spec. Rep. ser. Med. Res. Coun. (London), 238, 1-82, (1940).

TITUS E.D., LOO T.L., RALL D.P. — Identification of the bone fluorophore in tetracycline — treated rabbits. Antibiot. Ann., 5, 949-953, (1957-58).

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

URIST M.R. — The bone-body fluid continuum : calcium and phosphorus in the skeleton and blood of extinct and living vertebrates. Perspectives in Biology and Medicine, 6, 75-113, (1962).

URIST M.R. — The origin of bone. Discovery ,25, 13-19, (1964).

URIST M.R. — Avian parathyroid physiology. Including a special comment on calcitonin. Amer. Zool., 7, 883-895, (1967).

URIST M.R., DEUTSCH N.M., POMERANTZ G., Mc LEAN F.C. — Interrelations between actions of parathyroid hormone and estrogens on bone and blood in avian species. Amer. J. Physiol., 199, 851-855, (1960).

URIST M.R., Mac DONALD N.S., MOSS M.J., SKOOG N.A. — Rarefying disease of the skeleton : observations dealing with aged and dead bone in patients with osteoporosis. In : Mechanisms of hard tissue destruction, ed. R.F. Sognnaes, p. 557-575. Amer. Association for the advancement of Science. Washington, (1963).

URIST M.R., Van de PUTTE K.A. — Comparative biochemistry of the blood of fishes : identification of elasmobranchs and other fishes by the chemical composition of serum. Current investigations dealing with the biology of elasmobranch fishes. Am. Inst. Biol. Sciences, Washington, D.C., (1966).

VAES G. — La résorption osseuse et l'hormone parathyroïdienne. Thèse. Ed. A. de Visscher, Bruxelles, Belgique, (1967).

VAES G., NICHOLS G. — Metabolism of glycine — 1 — C^{14} by bone in vitro : effects of hormones and other factors. Endocrinology, 70, 890-901, (1962).

VERNON D., Van SOMEREN S.-A preliminary investigation into the causes of scale absorption in Salmon (Salmo salar, Linné). Fish Board of Scotland. Salmon Fish. 11, 1, (1937).

VINCENT J. — Microscopic aspects of mineral metabolism in bone tissue, with special reference to calcium, lead and zinc. Clin. Orthopaed. 26, 161-175 (1963).

WARSHAWSKY H., MOORE G. — A technique for the fixation and decalcification of rat incisors for electron microscopy. J. Histochem Cytochem., 15, 542-549, (1967).

WASSERMANN F. — Über die strukturellen grundlagen der chemie und des staffwechsels der stützsubstanzen. Chemie und Stoffwechsel von Binde und Knochen Gewebe. p. 1-24. Colloquium der Gesellschaft für Physiologische Chemie: Ed. Springer Verlag. Berlin, (1956).

WEIBEL E.R., ELIAS H. — Introduction to stereologic principles. In : quantitative methods in morphology. ed. E.R. Weibel and H. Elias, p. 89-98. Berlin Heidelberg, New-York, Springer, (1967).

WEINBERG E.D. — The mutual effects of antimicrobial compounds and metallic cations. Bact. Rev., 21, 46-68, (1957).

WHITSON S.W., SUZUKI H.K. — Osteolysis in compact bone of œstrogen — treated lizards demonstrated by electronmicroscopy. Anatomical Record Abstract, 166, 397, (1970).

WILLS W.R. — Fundamental physiological role of parathyroid hormone in acid base homeostasis. Lancet, 2, 802-804, (1970.)

WOODHEAD P.M.J. — Influence of œstradiol 3-benzoate upon the plasma content of calcium and vitamin A aldehydes in the cod, Gadus morhua. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 49, 939-944, (1969).

WOODS J.F., NICHOLS G. Jr — Collagenolytic activity in Rat bone cells. J. Cell. Biol., 26, 747-757, (1965).

YAMADA J. — Studies on the structure and growth of the scales in the goldfish. Mem. Fac. Fisheries, Hokkaido Univ. 9, 181-226, (1961).

YOUNG R.W. — Cell proliferation and specialization during endochondral osteogenesis in young rats. J. Cell. Biol., 14, 357-370, (1962 a).

YOUNG R.W. — Autoradiographic studies on postnatal growth of the skull in young rats injected with tritiated glycine. Anat. Record., 143, 1-7, (1962 b).

YOUNG R.W. — Specialization of bone cells. In " bone biodynamics ", p. 117-139. Ed. Frost H.M., Boston : Little, Brown and Co., (1964).

Source : MNHN, Paris

IMPRIMERIE NATIONALE

3 564 008 6

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

FIGURES

3 564 008 6

Source : MNHN, Paris

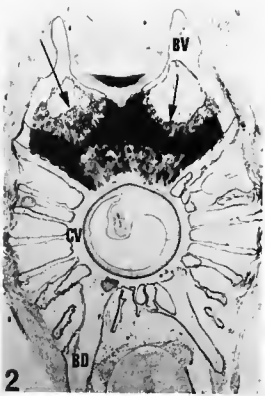
FIG. 1. — Coupe transversale d'une vertèbre caudale d'Anguille femelle argentée. Corps vertébral (CV) ; basidorsaux (BD) ; basiventraux (BV).

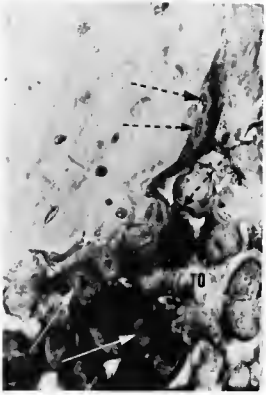
FIG. 2. — Coupe transversale d'une vertèbre caudale de jeune Truite. Nodules cartilagineux (⟶) au niveau des basiventraux (BV).

FIG. 3. — Cartilage hyalin typique chez la jeune Truite. Chondrocytes aplatis (⟶) et substance fondamentale très basophile, chondrocytes hypertrophiés (⟶) et ossification endochondrale (Oe). × 80.

FIG. 4. — Détail d'une région d'ossification endochondrale chez la jeune Truite. Les chondrocytes hypertrophiés dégénèrent (⟶). Des ostéoblastes (⟶) synthétisent des travées osseuses (TO). × 360.

Source : MNHN, Paris





BIBL. DU
MUSEUM
PARIS

Source : MNHN, Paris

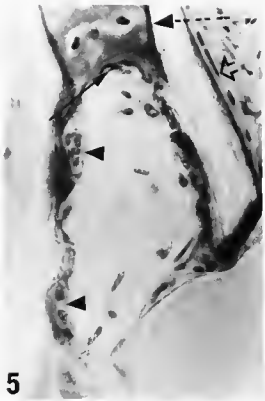
FIG. 5. — Région d'ossification endochondrale (⟶) et périchondrale (---➝) chez une jeune Truite. Coupe transversale. Ostéoclastes plurinucléés (▶) résorbant de l'os jeune. Ostéohlastes (♀). × 360.

FIG. 6. — Région d'ossification endochondrale (⟶) chez le Cyprin. Coupe transversale. Ostéoclaste (▶), formé par la fusion de trois cellules, situé dans une lacune de résorption. × 360.

FIG. 7. — Région d'ossification endochondrale (⟶) chez la jeune Truite. Coupe longitudinale. Chondrocytes hypertrophiés (---➝). Cellules conjonctives (Cj) donnant les ostéoblastes. Ostéoclaste (▶). × 360.

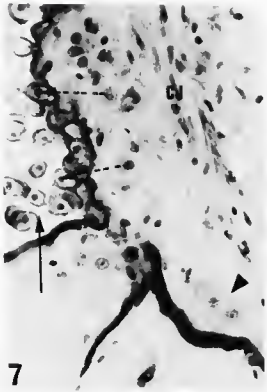
FIG. 8. — Coupe transversale de vertèbre caudale d'Anguille ♂. Os lamellaire (⟶), os fibreux (---➝).

Source : MNHN, Paris



5

6



7

8

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

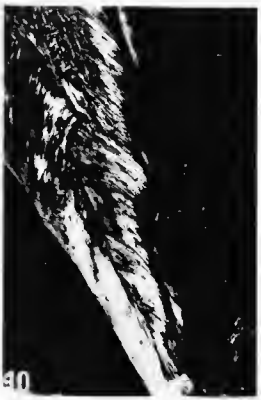
FIG. 9. — Mise en évidence, en lumière polarisée, de l'os fibreux (⇢) situé à la jonction entre arcs vertébraux et corps vertébral d'une vertèbre d'Anguille ♂. Os lamellaire (⟶). Coupe transversale. × 80.

FIG. 10. — Os fibreux observé en lumière polarisée dans un arc vertébral de jeune Truite. Coupe transversale. × 80.

FIG. 11. — Détail de l'os fibreux observé chez la jeune Truite, lumière polarisée. × 360.

FIG. 12. — Os lamellaire observé en lumière polarisée. Lacune de résorption (⟶), lames osseuses tranchées. Coupe transversale de vertèbre d'Anguille. × 360.

Source : MNHN, Paris



BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

Coupes transversales de vertèbres d'Anguille ♀ argentée.

FIG. 13. — Faisceaux de fibres de Sharpey (⟶) pénétrant dans l'os. Ostéoclaste (⇢). × 360.

FIG. 14. — Mise en évidence (lumière polarisée) de faisceaux de fibres de Sharpey (⟶) pénétrant perpendiculairement à la direction des lamelles osseuses. × 360.

FIG. 15. — Fibres de Sharpey (⟶) observées au microscope électronique sur coupe de 600 Å d'épaisseur. Noter la quasi complète minéralisation de celles-ci. G × 6.435.

FIG. 16. — Remaniement osseux. Sur une surface de résorption (⟶) s'est apposé de l'os nouveau (⇢) selon une orientation différente. Coupe transversale. × 360.

Source : MNHN, Paris

13

14

15

16

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

FIG. 17. — Coupe transversale d'un arc vertébral de jeune Truite. Ostéoblastes inactifs (⟶). Population de cellules fibroblastiques indifférenciées (---→). × 360.

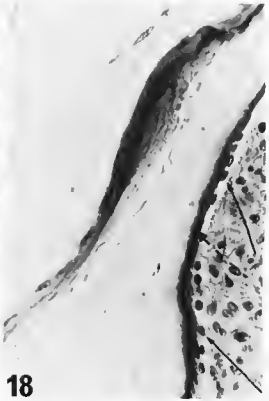
FIG. 18. — Coupe transversale d'un arc vertébral de jeune Truite. Ostéoblastes actifs (⟶). Liseré préosseux (---→) plus large que celui situé sous les ostéoblastes inactifs du cliché 17. × 360.

FIG. 19. — Coupe transversale d'un arc vertébral d'Anguille ♀ argentée. Ostéoblastes actifs (⟶). × 360.

FIG. 20. — Coupe transversale d'un arc vertébral d'Anguille ♀ mature. Ostéoblastes hyperactifs (⟶). Cellules ostéoprogénitrices stimulées (---→). × 360.

Source : MNHN, Paris

17



18

19

20

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

FIG. 21. — Ostéocytes en forme d'araignée avec canalicules ramifiés. Coupe longitudinale d'un arc vertébral d'Anguille. × 400.

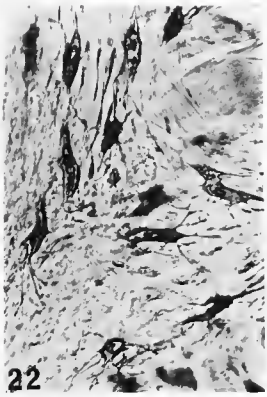
FIG. 22. — Ostéocytes en forme d'araignée dans un arc vertébral de Cyprin. Coupe longitudinale. × 400.

FIG. 23. — Ostéocyte d'Anguille. Noter la coloration par la fuschine basique des parois de l'ostéoplaste et des canalicules (⟶). × 800.

FIG. 24. — Ostéocyte de Truite, noter la forme ellipsoïdale et les canalicules partant des deux extrémités. Granulations basophiles dans le cytoplasme. × 800.

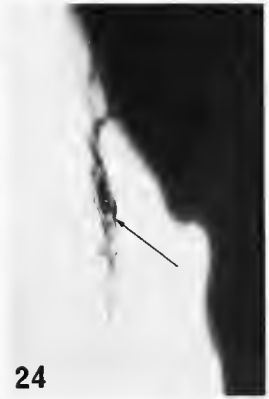
Source : MNHN, Paris

21



22

23



24

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

Os vertébral d'Anguille ♀ argentée.

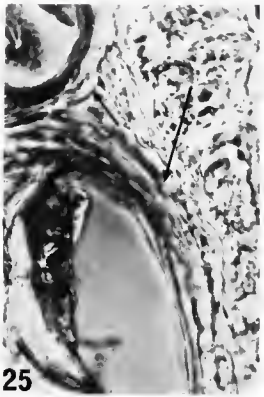
FIG. 25. — Observation en contraste de phase. Mise en évidence de l'orientation des couches fibreuses nouvellement apposées (⟶). × 360.

FIG. 26. — Observation au microscope électronique sur coupes de 600 Å de la substance interstitielle calcifiée. Striation du collagène (⟶), espaces entre les fibres (- - - →). G × 17.775.

FIG. 27. — Ostéoclaste (⟶) dans lacune de Howship entouré d'une région fortement colorée par la fuschine basique, probablement en cours de déminéralisation (- - - →). × 360.

FIG. 28. — Microradiographie de la coupe (27). Les tissus en cours de déminéralisation sur la coupe (27) présentent encore une légère opacité aux RX (⟶). × 360.

Source : MNHN, Paris



BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

FIG. 29. — Coupe transversale d'un arc neural d'Anguille ♀ argentée. Ostéoclaste plurinucléé (⟶) accolé à la paroi osseuse. × 360.

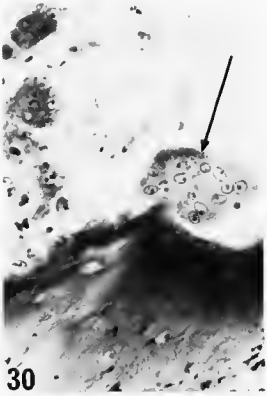
FIG. 30. — Coupe transversale de vertèbre de Congre ♀ mature. Ostéoclaste plurinucléé coiffant un spicule osseux (⟶). × 360.

FIG. 31. — Ostéoclaste sphérique (vertèbre d'Anguille ♀ mature). Cytoplasme granuleux, noyaux avec gros granules de chromatine. × 800.

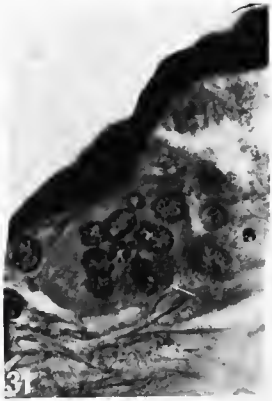
FIG. 32. — Ostéoclaste oblong (⟶) présentant les mêmes caractéristiques que le précédent. Vertèbre d'Anguille ♀ mature (- - -→). × 800.

Source : MNHN, Paris

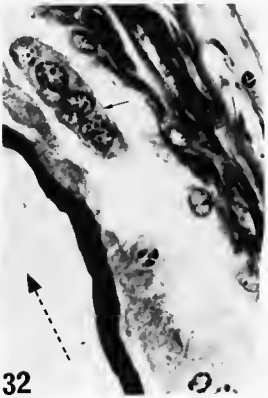
29



30



31



32

3 564 008 6

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

FIG. 33. — Arc neural d'Anguille ♀ mature. Préostéoclastes (⟶) à gros noyaux sphériques et cytoplasme granuleux. Ostéoclaste plurinucléé (- - -→). Cellules ostéoprogénitrices stimulées. × 360.

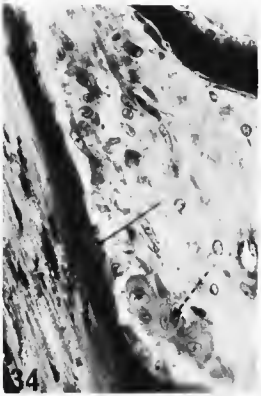
FIG. 34. — Préostéoclastes (⟶), préostéoclastes fusionnant en ostéoclaste plurinucléé (- - -→). Os vertébral de Congre ♀ mature. × 360.

FIG. 35. — Préostéoclastes (⟶) fonctionnels situés dans une brèche de résorption avec front de décalcification. Os vertébral de Cyprin. × 360.

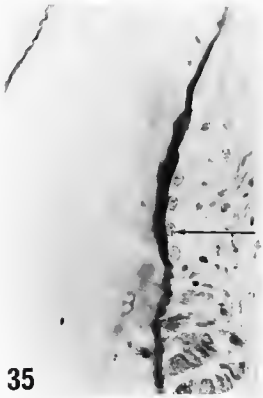
FIG. 36. — Ostéoclaste (⟶) résultant de la fusion de trois cellules; os vertébral de Cyprin. × 360.

Source : MNHN, Paris

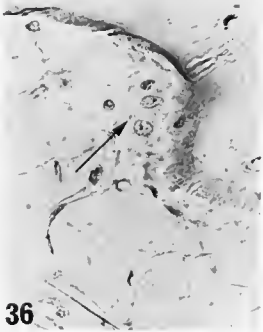
33



34



35



36

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

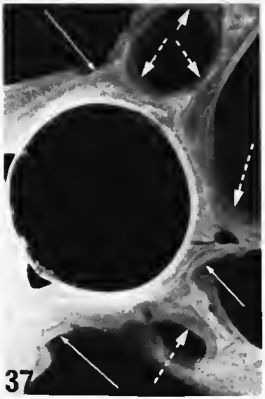
FIG. 37. — Microradiographie d'une partie d'arc vertébral d'Anguille. Surfaces de résorption (⟶). Surfaces en apposition (---→). × 360.

FIG. 38. — Microradiographie (arc vertébral d'Anguille) mettant en évidence une ligne cimentante ➡. Surfaces de résorption (⟶). Surface au repos (---→). × 360.

FIG. 39. — Prise de vue en UV d'une partie d'arc hémal d'Anguille marqué par la Tétracycline. Fluorescence intense des surfaces de résorption (⟶). Fluorescence plus faible correspondant à une surface en apposition (---→). × 360.

FIG. 40. — Arc hémal d'Anguille marqué par la Tétracycline (UV). Les surfaces apposées (---→) sont plus fortement marquées que sur la coupe (39). × 360.

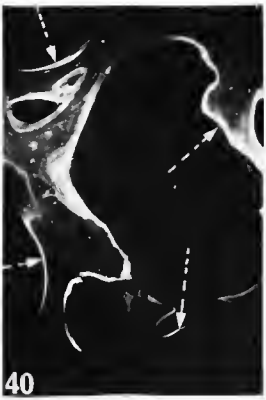
Source : MNHN, Paris



37

38

39



40

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

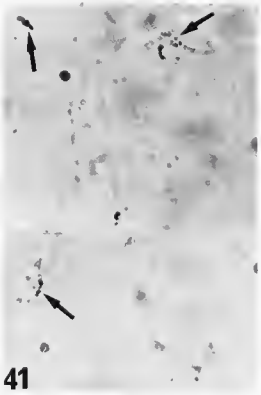
FIG. 41. — Coupe transversale d'os vertébral d'Anguille. Rebords lacunaires marqués par la glycine tritiée (⟶). × 800.

FIG. 42. — Prise de vue en UV de deux lacunes (⟶) fluorescentes après marquage à la tétracycline. × 800.

FIG. 43. — Coupe transversale d'os vertébral de Truite. Ostéoblastes (⟶) ayant fonction d'ostéoclastes situés dans des brèches de résorption. × 360.

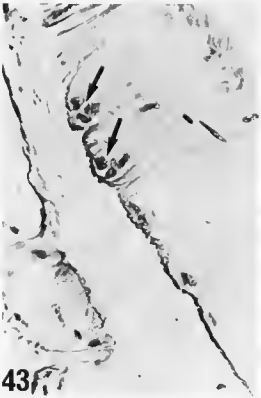
FIG. 44. — Coupe transversale d'os vertébral d'Anguille ♀ mature. Préostéoclastes (⟶) comparables aux cellules mononucléées résorbantes de l'os de Truite (43). × 200.

Source : MNHN, Paris



41

42



43

44

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

FIG. 45. — Vertèbre d'Anguille ♀ mature, coupe transversale, ostéocytes ostéolytiques (⟶) avec halo de déminéralisation coloré. Comparer avec une lacune normale (---→). Ostéoclaste ▶. × 360.

FIG. 46. — Coupe transversale d'arc neural d'Anguille ♀ argentée ; ostéocyte nécrotique logé dans une lacune agrandie (⟶) et ostéocytes entourés d'une zone colorée. Ostéocytes normaux (---→). × 360.

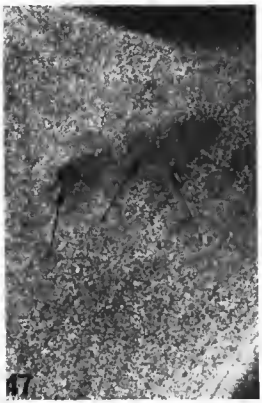
FIG. 47. — Microradiographie de la coupe (46) montrant une zone déminéralisée (⟶) au niveau des lacunes agrandies avec halo coloré. × 360.

FIG. 48. — Os vertébral de jeune Truite. Coupe transversale. Noter l'abondance des lacunes vides (⟶). × 360.

Source : MNHN, Paris

45

46



47

48

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

Vues générales de coupes transversales de vertèbres d'Anguilles ♀.

FIG. 49. – ♀ témoin, surfaces osseuses lisses (----) peu sont atteintes par la résorption ostéoclastique (⟶).

FIG. 50. – ♀ mature privée de corpuscules de Stannius. Arcs hémaux très résorbés (⟶), arcs neuraux par contre, pratiquement intacts.

FIG. 51. – ♀ mature, arcs neuraux et hémaux très réduits, corps vertébral lui-même très érodé.

FIG. 52. – ♀ mature, animal différent du cliché précédent, ampleur de la résorption comparable dans les deux cas.

Source : MNHN, Paris

49

50

51

52

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

Os vertébral d'Anguilles ♀ matures, coupes transversales.

FIG. 53. — Surface osseuse en cours de résorption (faible grossissement), brèches avec cellules ayant un aspect ostéoclastique (⟶). Ostéolyse (⇢). × 200.

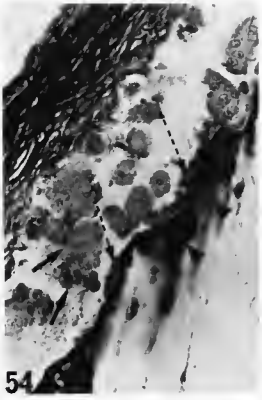
FIG. 54. — Ostéoclastes plurinucléés (⟶) et préostéoclastes (⇢) bordant une surface en cours de résorption avec front de décalcification ▶. × 360.

FIG. 55. — Grande lacune de résorption. Noter la différence entre les noyaux des cellules nettement différenciées en ostéoclastes (⟶) et les noyaux clairs des cellules environnantes (⇢). × 360.

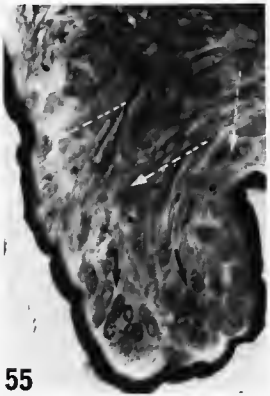
FIG. 56. — Ostéoclastes typiques multinucléés (⟶) accolés à une surface osseuse fortement colorée, probablement en cours d'ostéolyse (⇢). × 500.

Source : MNHN, Paris

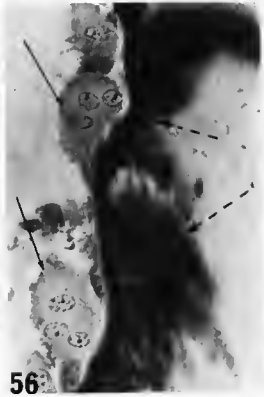
53



54



55



56

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

FIG. 57. — Os vertébral d'une Anguille ♀ en cours de maturation (A, RGS = 10). Préostéoclastes typiques non encore fonctionnels (⟶). × 360.

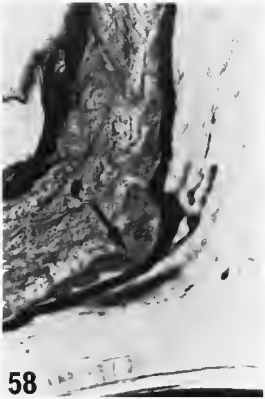
FIG. 58. — Os vertébral d'une Anguille ♀ en cours de maturation (B, RGS = 21). Préostéoclastes typiques dans lacune de résorption (⟶). × 360.

FIG. 59. — Os vertébral d'une Anguille ♀ en cours de maturation. (C, RGS = 29). Grande lacune de résorption avec préostéoclastes fusionnant (⟶). × 360.

FIG. 60. — Os vertébral d'une Anguille ♀ mature. Population ostéoclastique (⟶) dans grande lacune de résorption. × 200.

Source : MNHN, Paris

57.



58

59

60

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

Os vertébral de Congres ♀ matures, coupes transversales.

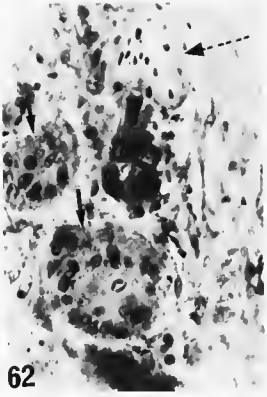
FIG. 61. — Lacune de résorption avec ostéoclaste plurinucléé comparable à ceux observés dans l'os de l'Anguille ♀ mûre (⟶). Nombreux capillaires (---→). × 360.

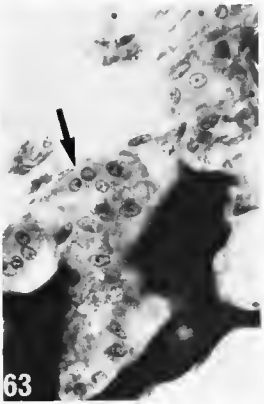
FIG. 62. — Ostéoclastes plurinucléés (⟶). Ostéoclaste en désagrégation (---→). × 360.

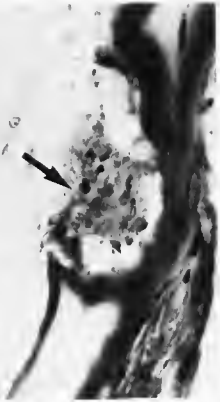
FIG. 63. — Lacune de résorption, ostéoclastes fusionnant et formant un plasmodium (⟶). Noter la coloration de la substance osseuse déminéralisée. × 360.

FIG. 64. — Ostéoclaste pycnotique dans lacune de Howship. × 360.

Source : MNHN, Paris







3 564 008 6

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

Os vertébral de Cyprins traités à l'oestrone. Coupes transversales.

FIG. 65. — Région osseuse nouvellement apposée (⟶) le long d'un arc neural, colorée, donc faiblement minéralisée. Cette lame osseuse est entaillée de lacunes de résorption (---→). × 80.

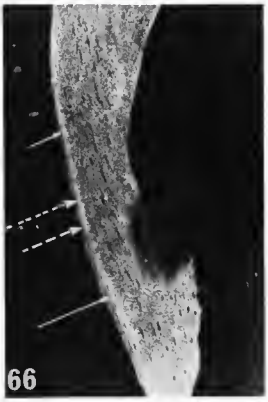
FIG. 66. — Radiographie de la portion d'arc neural (65) mettant en évidence la faible minéralisation de la couche récemment apposée (⟶). Lacunes de résorption (---→). × 80.

FIG. 67. — Lacune de résorption dans région faiblement minéralisée, noyaux de deux préostéoclastes (⟶). Noter les ostéocytes alignés (➡) correspondant à des ostéoblastes rapidement pris dans l'os. × 360.

FIG. 68. — Ostéoclaste plurinucléé dans lacune de résorption (⟶). × 360.

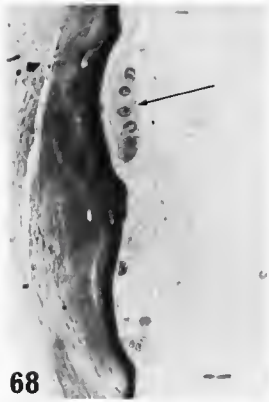
Source : MNHN, Paris

65



66

67



68

BIBL. DU
MUSEUM
PARIS

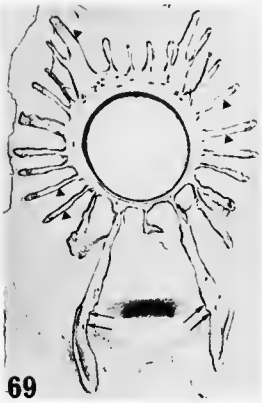
Source : MNHN, Paris

FIG. 69. — Coupe transversale de vertèbre de jeune Truite (eau du robinet). Grandes brèches de résorption (⟶) le long des faces internes des arcs hémaux. Les trabécules osseux présentent des surfaces lisses (▶).

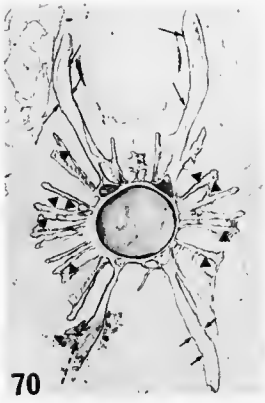
FIG. 70. — Coupe transversale de vertèbre de jeune Truite (eau sans calcium + T_4). Petites lacunes de résorption nombreuses (⟶) le long des arcs vertébraux. Arc neural en cours de destruction (⟶). Trabécules entièrement crénelés (▶).

FIG. 71-72. — Os vertébral de jeune Truite (eau sans Ca + T_4). Ostéoblastes (faisant fonction d'ostéoclastes mononucléés) dans cryptes de résorption (⟶). Comparer avec noyaux des vrais ostéoblastes (⟶). × 360.

Source : MNHN, Paris



69



70

71

72

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

FIG. 73. — Vue générale du C.U.B. d'une Anguille ♀ immature (× 80).

FIG. 74. — Vue générale du C.U.B. d'une Anguille ♀ mature hypercalcémique. Cellules en dégénérescence (⟶). × 80.

FIG. 75. — Épithélium du C.U.B. d'une Anguille ♀ immature observé à un fort grossissement. × 360.

FIG. 76. — Épithélium du C.U.B. d'une Anguille ♀ mature hypercalcémique observé à un fort grossissement. Noter : la hauteur épithéliale, les cellules piriformes (⟶), les vaisseaux sanguins dilatés (➡) et une mitose (---➝). × 360.

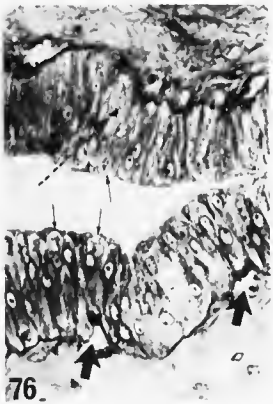
Coloration des coupes : Cleveland Wolfe.

Source : MNHN, Paris

73

74

75



76

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

Comparaison entre le C.U.B. d'un Congre ♀ témoin immature
et celui d'un Congre ♀ mature maintenu en eau de mer.

FIG. 77. — Épithélium du C.U.B. d'un Congre ♀ immature. Noter l'épithélium pluristratifié (⟶) les noyaux basophiles, les cellules dépourvues de granulations. × 360.

FIG. 78. — Épithélium du C.U.B. d'un Congre ♀ mature. Noter la hauteur épithéliale approximativement double de celle du témoin. Les noyaux clairs à gros nucléoles (⟶). L'abondance des produits de sécrétion qui donne la coloration diffuse du cytoplasme. × 360.

Coloration : Cleveland Wolfe.

Source : MNHN, Paris

77

78

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

Microradiographies (vues générales) de coupes transversales de vertèbres caudales d'Anguille.

FIG. 79. — Anguille ♀ argentée témoin. Surfaces de résorption (⟶).

FIG. 80. — Anguille ♀ mature. Noter l'importance des surfaces atteintes par la résorption ostéoclastique (⟶). Arcs hémaux très réduits.

FIG. 81. — Anguille ♀ traitée à la CT de Saumon en cours de maturation. Noter (comparaison avec coupe 80) les surfaces résorbées (⟶) moins importantes.

FIG. 82. — Anguille ♀ traitée à la CT de Saumon après la ponte. Résorption ostéoclastique comparable à celle de la coupe témoin (79).

Source : MNHN, Paris

BIBL. DU
MUSEUM
PARIS

Source : MNHN, Paris

FIG. 83. — Crypte de résorption avec nombreux ostéoclastes (⟶). Os vertébral d'Anguille ♀ mature. × 200.

FIG. 84. — Crypte de résorption dans laquelle subsiste quelques débris cellulaires (⟶). Os vertébral d'Anguille ♀ traitée à la CT de Saumon en cours de maturation. × 200.

FIG. 85. — Détail d'une surface d'arc vertébral d'Anguille traitée à la CT de Saumon en cours de maturation. Ostéoclastes en désagrégation (⟶). × 360.

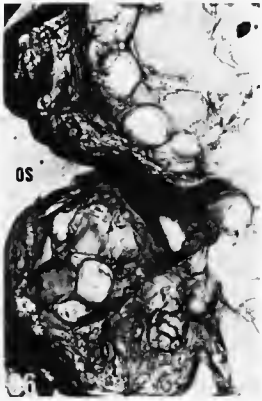
FIG. 86. — Crypte de résorption dans laquelle ne subsiste aucune cellule. Os vertébral d'Anguille ♀ traitée à la CT de Saumon après la ponte. × 200.

Source : MNHN, Paris

83

84

85



BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

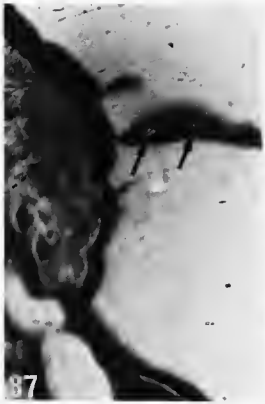
FIG. 87. — Os vertébral d'Anguille ♀ mature. Lacunes agrandies avec halo de déminéralisation (⟶). Résorption ostéoclastique (⟶). × 360.

FIG. 88. — Os vertébral de Congre ♀ mature. Région d'ostéolyse avec lacunes agrandies (⟶). Lacune normale (⟶). × 360.

FIG. 89. — Os vertébral d'Anguille ♀ mature. Lacunes agrandies (⟶), lacunes confluentes (⟶).

FIG. 90. — Radiographie de la coupe. Noter la correspondance entre les lacunes agrandies et les régions déminéralisées (⟶). × 400.

Source : MNHN, Paris


87

88

89

90

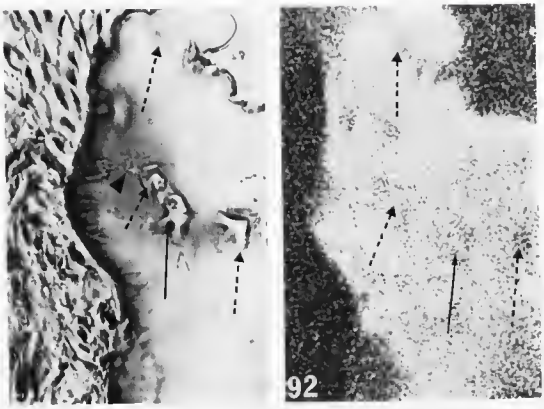
BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

FIG. 91. — Os vertébral de Congre ♀ mature. Lacunes agrandies (⟶) et lacunes vides (- - -→). Halo de déminéralisation. × 360.

FIG. 92. — Radiographie de la coupe précédente montrant aux mêmes endroits des régions faiblement minéralisées. × 360.

Source : MNHN, Paris



BIB. DU MUSEUM PARIS

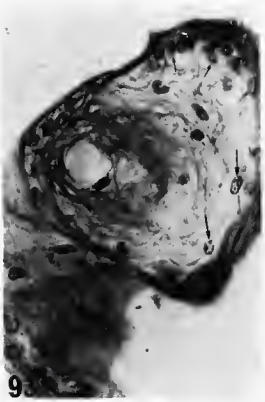
3 564 008 6

Source : MNHN, Paris

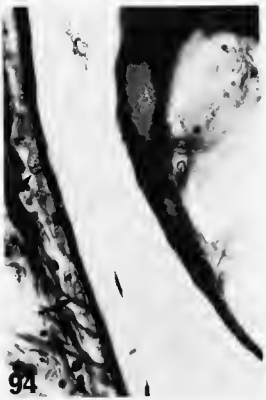
FIG. 93. — Os vertébral d'Anguille ♀ mature, cellules bordantes stimulées. Noter les noyaux volumineux (⟶). × 360.

FIG. 94. — Os vertébral d'Anguille ♂ privée de corpuscules de Stannius. Cellules bordantes très stimulées (⟶), comparer avec des ostéoblastes normalement actifs chez le même animal. Fig. (19). × 360.

Source : MNHN, Paris



93



94

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

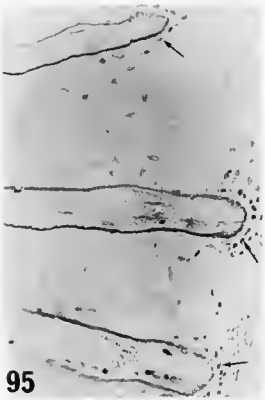
FIG. 95. — Os vertébral de Truite (eau du robinet). Ostéoblastes inactifs dans région d'ostéogénèse (⟶). × 80.

FIG. 96. — Os vertébral de Truite (eau sans Ca + T_4). Ostéogénèse active, large liseré préosseux (⟶). × 80.

FIG. 97. — Os vertébral de Truite (eau sans Ca + T_4). Détail d'une région d'ostéogénèse active (⟶). × 200.

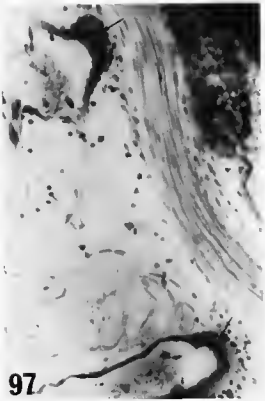
FIG. 98. — Os vertébral de Truite (eau sans Ca + T_4). Détail à un plus fort grossissement d'une région d'ostéogénèse. Ostéoblastes (⟶). Liseré préosseux (----). × 360.

Source : MNHN, Paris

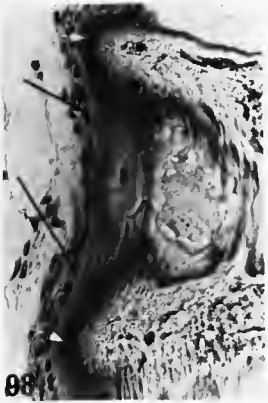


95

96



97



98

BIBL DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

FIG. 99-100. — Radiographies de parties d'arcs vertébraux de Cyprins traités à l'oestrone. Noter le large liseré préosseux (⟶) faiblement minéralisé, déjà fortement entaillé par la résorption ostéoclastique (---→). Noter la régularité de la dimension des ostéoplastes montrant l'absence de stimulation de la résorption.

Source : MNHN, Paris

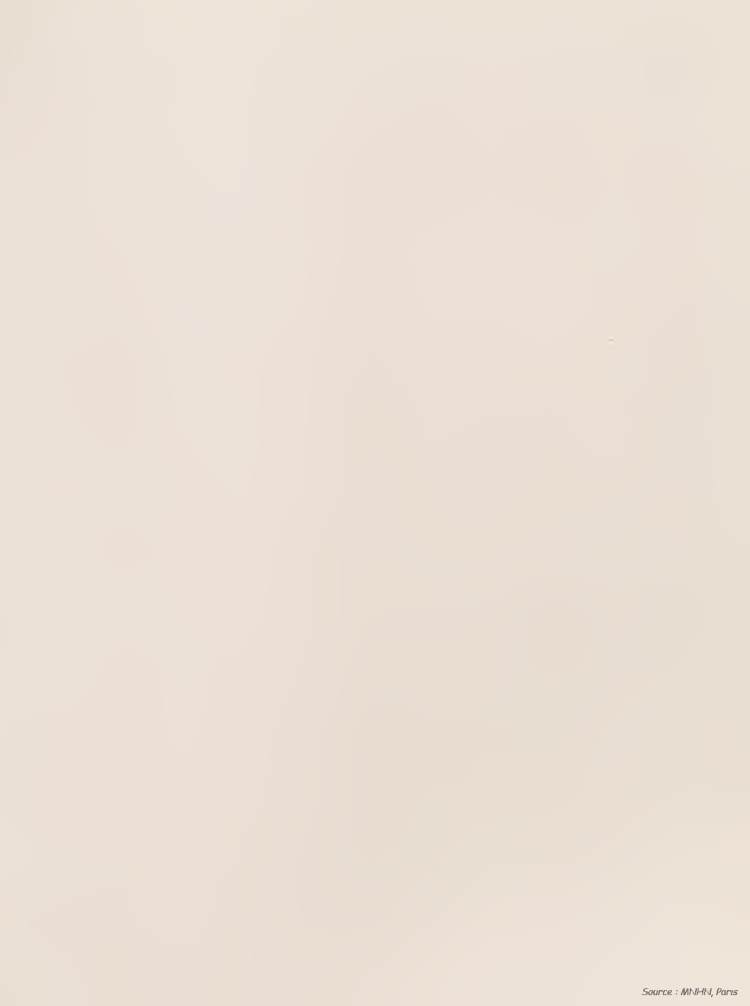
BIBL. DU
MUSEUM
PARIS

Source : MNHN, Paris

IMPRIMERIE NATIONALE

3 564 008 6

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

1 30 0.3

ÉDITIONS DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

En vente à la Bibliothèque centrale du Muséum,
38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire, Paris (5e)
C.C.P. : Paris 9062-62

Annuaire du Muséum national d'Histoire naturelle (paraît depuis 1939).
Archives du Muséum national d'Histoire naturelle (depuis 1802. In-4°, sans périodicité).
Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle (depuis 1895 ; 6 numéros par an).
Grands naturalistes français (depuis 1952. Sans périodicité).
Mémoires du Muséum national d'Histoire naturelle (depuis 1936. Depuis 1950, nouvelle série en 3 (puis 4) parties : A. Zoologie ; B. Botanique ; C. Sciences de la terre ; D. Sciences physico-chimiques. Sans périodicité).
Notes et Mémoires sur le Moyen-Orient (depuis 1933. In-4°, sans périodicité).
Publications du Muséum national d'Histoire naturelle (depuis 1933. Sans périodicité).

PUBLICATIONS DES LABORATOIRES DU MUSÉUM

En vente à l'adresse de chaque laboratoire

Bulletin du Laboratoire maritime de Dinard (Ille-et-Vilaine). Depuis 1928.
Objets et Mondes. La revue du Musée de l'Homme. Directeur : M. J. Millot, Palais de Chaillot, Paris (16e) ; depuis 1961 ; trimestriel.
Mammalia. Morphologie, Biologie, Systématique des Mammifères. Directeur : M. J. Dorst, Laboratoire de Zoologie des Mammifères, 55, rue Buffon, Paris (5e) ; depuis 1936 ; trimestriel.
Index Seminum Horti parisiensis. Service des Cultures, 61, rue Buffon, Paris (5e) ; depuis 1882 ; échange.
Journal d'Agriculture tropicale et de Botanique appliquée, suite de *Revue internationale de Botanique appliquée et d'Agriculture coloniale*, depuis 1954. Laboratoire d'ethnobotanique, 57, rue Cuvier, Paris (5e).
Adansonia (suite aux *Notulae Systematicae*). Directeur : M. A. Aubréville, Laboratoire de Phanérogamie, 16, rue Buffon, Paris (5e) ; sans périodicité.
Revue Algologique. Directeur : M. R. Lami, Laboratoire de Cryptogamie, 12, rue Buffon, Paris (5e) ; depuis 1924.
Revue Bryologique et Lichénologique. Directeur : Mme V. Allorge, Laboratoire de Cryptogamie ; depuis 1874.
Revue de Mycologie. Directeur : M. Roger Heim, Laboratoire de Cryptogamie ; depuis 1928.
Cahiers de La Maboké. Directeur : M. Roger Heim, Laboratoire de Cryptogamie, 12, rue Buffon, Paris (5e) ; depuis 1963.
Pollen et Spores. Directeur : Mme Van Campo, Laboratoire de Palynologie, 61, rue Buffon, Paris (5e) ; depuis 1959 ; semestriel.

Source : MNHN, Paris